

Reagents

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

El QUANTA Flash h-tTG IgG es un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) para la detección semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-transglutaminasa tisular humana (h-tTG) en suero humano. La presencia de anticuerpos IgG anti-h-tTG, en combinación con resultados clínicos y otros análisis de laboratorio, puede servir de ayuda para el diagnóstico de la enteropatía de la enfermedad celíaca por sensibilidad al gluten, en especial en pacientes con deficiencia selectiva de IgA.

Resumen y explicación de la prueba

La celiaquía (CD) es una enfermedad crónica cuyas características principales son inflamación y un típico “aplanamiento” de la mucosa intestinal que provoca un síndrome de malabsorción denominado “enteropatía por sensibilidad al gluten”. Aunque la etiología exacta de la celiaquía es aún desconocida, la gliadina (la fracción soluble en alcohol del gluten del trigo) es claramente el agente tóxico.^{1,2}

Inicialmente, se utilizaban una serie de biopsias intestinales para diagnosticar la enfermedad celíaca. Más recientemente, se ha propuesto el análisis serológico de anticuerpos anti-gliadina, anti-endomisio y anti-tTG para identificar a los pacientes con posible enteropatía por sensibilidad al gluten y supervisar el cumplimiento de las dietas.³⁻⁵ La Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición ha recomendado el uso de anticuerpos como marcadores (por ejemplo, los anticuerpos anti-gliadina y anti-endomisio) con el fin de reducir el número de biopsias intestinales necesarias para obtener un diagnóstico.⁵

El antígeno de endomisio ha sido identificado como la enzima tTG, que cataliza la formación de uniones covalentes entre proteínas.⁶ El antígeno h-tTG se produce mediante tecnología recombinante y puede tener ciertas ventajas frente al antígeno de hígado de cobaya.^{7,8}

Muchas personas celíacas que poseen suficiente IgA no desarrollan anticuerpos IgG contra la tTG. La mayoría de los que presentan deficiencia de IgA desarrollan dichos anticuerpos IgG. En una revisión bibliográfica se descubrió que 106 de 108 pacientes (98%) con enfermedad celíaca que presentaban deficiencia selectiva de IgA fueron positivos para IgG anti-tTG.⁹

Principios del procedimiento

Se recubren partículas paramagnéticas con antígeno h-tTG recombinante purificado y se guardan en el cartucho de reactivos en unas condiciones que mantienen el antígeno en su estado reactivo. Cuando el cartucho del ensayo está preparado para el primer uso, se añade una solución tampón al tubo que contiene las partículas y estas se mezclan con el tampón. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH[®].

Mediante el instrumento se diluye una muestra de suero de paciente en un factor de 1:17, añadiendo de lavado del sistema para a una cubeta de plástico desechable. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, las partículas de h-tTG y el tampón del ensayo. Esta cubeta se incuba a 37 °C y, después, las partículas se magnetizan y se lavan varias veces. A continuación se añade anticuerpo anti-IgG humana conjugado con isoluminol a la cubeta y se incuba a 37 °C. De nuevo, las partículas se magnetizan y se lavan repetidamente. El conjugado de isoluminol produce una reacción luminiscente cuando se añaden a la cubeta los reactivos “iniciadores”. La luz generada por la reacción se mide como unidades relativas de luz (RLU) mediante el sistema óptico del BIO-FLASH. El número de RLU es proporcional a la cantidad de conjugado de isoluminol ligado, que a su vez es proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG anti-h-tTG unidos a la h-tTG de las partículas.

El ensayo QUANTA Flash h-tTG IgG utiliza una curva maestra predefinida específica para cada lote que se carga en el instrumento mediante el código de barras del cartucho de reactivos. A partir de los resultados obtenidos mediante el análisis de dos calibradores se genera una curva de trabajo específica para el instrumento, que el software utiliza para calcular las unidades de quimioluminiscencia (CU) basándose en el valor de RLU obtenido para cada muestra.

Reactivos

1. El cartucho de reactivos del QUANTA Flash h-tTG IgG contiene los reactivos siguientes para 50 determinaciones:
 - a. Partículas paramagnéticas recubiertas de h-tTG, conservadas antes del primer uso.
 - b. Tampón del ensayo, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.
 - c. IgG trazadora: anticuerpos anti-IgG humana marcados con isoluminol, que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservante.
2. Tampón de resuspensión, de color rosa, en un vial que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes.

Advertencias

1. El tampón del ensayo contiene una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa que puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza pilas de lavado para eliminar los reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
4. Los derrames de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente cuando elimine residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Este ensayo solo debe utilizarse con el instrumento BIO-FLASH.
3. Se recomienda seguir estrictamente el protocolo de resuspensión indicado.
4. No debe utilizarse suero lipémico, icterico o muy hemolizado.
5. Una vez abierto, el cartucho de reactivos debe almacenarse en el carrusel de reactivos del instrumento. La colocación por primera vez del cartucho de reactivos en el instrumento debe realizarse con todo cuidado para no derramar reactivos.
6. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o un aclarado inadecuados del instrumento. Los restos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Limpie siempre el instrumento siguiendo las recomendaciones indicadas en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de conservación

Guarde los cartuchos de reactivos no abiertos y el tampón de resuspensión entre 2 y 8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y se manipulan tal como está indicado.

Los cartuchos de reactivos abiertos deben guardarse cargados en el instrumento. El software BIO-FLASH supervisa la fecha de caducidad del cartucho cargado (en uso) y la del lote de reactivo (periodo de validez) del cartucho de reactivos. El sistema no permitirá utilizar cartuchos que hayan caducado.

Recogida, preparación y manejo de las muestras

Este procedimiento debe realizarse en una muestra de suero. No deben utilizarse muestras que estén contaminadas con microorganismos, que hayan recibido un tratamiento a base de calor o que contengan partículas visibles. No debe utilizarse suero lipémico, icterico o muy hemolizado. Tras la recogida, el suero debe separarse del coágulo. El documento H18-A4 del CLSI recomienda las siguientes condiciones de almacenamiento de muestras.

1. No guarde las muestras a temperatura ambiente durante más de 8 horas.
2. Si el análisis no se efectúa en un plazo de 8 horas, refrigere las muestras a una temperatura de 2 a 8 °C.
3. Si el análisis no va a realizarse en un plazo de 48 horas o si las muestras deben prepararse para ser enviadas, congélelas a una temperatura de -20 °C o inferior. Las muestras congeladas deben mezclarse bien después de descongelarse y antes del análisis.

Procedimiento

Materiales suministrados

- 1 Cartucho de reactivos QUANTA Flash h-tTG IgG
- 1 Tampón de resuspensión
- 1 Pipeta de transferencia

Materiales adicionales necesarios no suministrados

Instrumento BIO-FLASH con ordenador para manejarlo

Líquido de lavado del sistema BIO-FLASH (número de componente: 3000-8205)

Iniciadores BIO-FLASH (número de componente: 3000-8204)

Cubetas BIO-FLASH (número de componente: 3000-8206)

Calibradores QUANTA Flash h-tTG IgG (número de componente: 701106)

Controles QUANTA Flash h-tTG IgG (número de componente: 701107)

Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

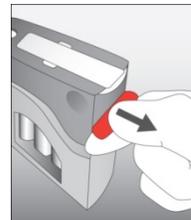
1. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de uso detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos a este ensayo, póngase en contacto con el servicio técnico de INOVA Diagnostics, Inc., en la dirección o número de teléfono indicados al final de estas instrucciones de uso.
2. Para vaciar el recipiente de residuos sólidos, abra el cajón de residuos. Retire el recipiente de residuos sólidos y deshágase apropiadamente de las cubetas usadas. Vuelva a colocar el recipiente de residuos sólidos, cierre el cajón de residuos y haga clic en **Yes** en la ventana **Empty Waste Drawer**.
3. Para sustituir los iniciadores, haga clic en el botón **Bulks Inventory F9** de la parte superior derecha.
 - a. En la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Triggers** situado a la izquierda. Se abrirá la ventana **Add Triggers – Remove old bottles**.
 - b. Abra el cajón de residuos del instrumento BIO-FLASH y extráigalo. Tire todas las cubetas del cajón de residuos secos. Haga clic en **Yes** en la ventana **Empty Waste Drawer**. Retire los frascos del iniciador de sus soportes y haga clic en el botón **Next**. Desenrosque los frascos viejos del iniciador de sus tapones y sustitúyalos por nuevos iniciadores. Realice la operación frasco a frasco y respete el código de color de los tapones (blanco-blanco, rojo-rojo).
 - c. Siga las instrucciones de la ventana que se abrirá, **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle**. Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 2 en el soporte de color blanco. Haga clic en **Next**.
 - d. Siga las instrucciones de la ventana **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle**. Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 1 en el soporte de color rojo. Haga clic en **Finish**. Vuelva a colocar el cajón de residuos y ciérrelo.
4. Para sustituir el recipiente de líquido de lavado del sistema, haga clic en el botón **Bulks Inventory F9** en la esquina superior derecha. En la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Sys. Rinse**. En la ventana que se abrirá, **Add System Rinse – Remove bottles**, haga clic en **Next**. Siga las instrucciones de la nueva ventana que se abrirá, **Add System Rinse – Add bottle**. Una vez aceptado el código de barras, haga clic en **Finish**, si es necesario.
5. Para vaciar el recipiente de residuos líquidos, en la pantalla **Inventory – Bulks** haga clic en el botón **Fluid Waste**. Extraiga el residuo líquido y elimínelo. Haga clic en **Next**. Una vez sustituido el frasco vacío, haga clic en **Finish**.

Método

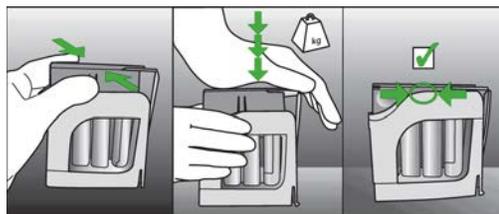
Preparación del cartucho de reactivos

La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, deben seguirse los pasos indicados a continuación para instalarlo adecuadamente en el instrumento BIO-FLASH. Nota: No utilice el cartucho de reactivos si presenta cualquier signo de daño.

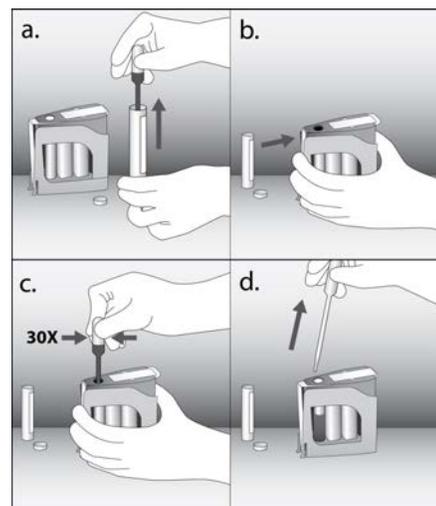
1. Coloque el cartucho de reactivos sobre una superficie sólida. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra mano, agarre con fuerza la pestaña roja de la parte posterior del cartucho de reactivos y tire de ella completamente.



2. Mientras pulsa las dos pestañas laterales del tapón de perforación (parte gris), aplique presión a la parte superior del cartucho de reactivos hasta que descienda y alcance un tope. Las pestañas deberían quedar ocultas. **NO INVIERTA EL CARTUCHO ABIERTO.**



3. Resuspenda las micropartículas de h-tTG:
 - a. Destape el vial del tampón de resuspensión y recoja líquido con la pipeta de transferencia suministrada. Se utilizará todo el contenido del vial.
 - b. Presione suavemente el lateral estrecho del cartucho de reactivos para deslizar la tapa del cartucho hasta la posición abierta y manténgala en esta posición. Transfiera analíticamente todo el contenido del vial al tubo de reactivo de micropartículas a través del orificio único de la parte superior del cartucho de reactivos.



- c. Mezcle el contenido del tubo de reactivo de micropartículas aspirando y dispensando el líquido al menos 30 veces. Si se observan masas visibles de micropartículas, continúe mezclando la solución 30 veces más. Si las micropartículas no se resuspenden, **NO UTILICE EL CARTUCHO.**
- d. Asegúrese de dispensar todo el líquido antes de retirar la pipeta del tubo y desecharla.

4. Retire el adhesivo de la parte superior del cartucho de reactivos para descubrir los otros tres orificios.
5. Coloque el cartucho de reactivos en cualquier ranura abierta del carrusel de reactivos del instrumento BIO-FLASH.

Calibración del ensayo

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Consulte el apartado **QUANTA Flash® h-tTG IgG Calibrators 701106** del presente documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo calibrar el cartucho de reactivos.
3. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse.

Programación y análisis de las muestras

1. Pulse el botón **Worklist** de la parte superior de la pantalla y seleccione la pestaña **Racks** de la parte inferior.
2. Seleccione la gradilla de muestras que se utilizará, marcándola en la pantalla o escaneando su código de barras con el lector manual de códigos de barras. Escanee o escriba el nombre de la muestra, indique el tipo de muestra, elija el tipo de recipiente (tubo/copa) y seleccione h_tTG_IgG en el panel del ensayo. Repita estos pasos para todas las muestras.
3. Cargue las muestras en las posiciones seleccionadas de la gradilla de muestras y coloque la gradilla en el carrusel de muestras del instrumento.
4. Cuando todos los materiales necesarios estén cargados en el instrumento, el icono de inicio pasará a estar disponible, en color verde, en la parte superior de la pantalla. Pulse el icono **Start F4** para comenzar el análisis.

Control de calidad

Los controles QUANTA Flash h-tTG IgG (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701107) contienen los controles positivos y negativos del h-tTG IgG. Consulte el apartado **QUANTA Flash® h-tTG IgG Controls 701107** de este documento para obtener instrucciones detalladas sobre cómo introducir en el software todos los datos necesarios de cada control y cómo analizar los controles. Se recomienda analizar los controles una vez cada día en que se utilice el ensayo, aunque los usuarios también deben tener en cuenta los requisitos de la legislación nacional y local.

Cálculo de los resultados

Para cada nuevo lote del QUANTA Flash h-tTG IgG, INOVA genera una curva maestra de cinco puntos. Los parámetros de esta curva se codifican mediante el código de barras de cada cartucho de reactivos. Durante la calibración, a partir de la curva maestra se crea una curva de trabajo específica del instrumento, que se utiliza para convertir las RLU en CU. La reactividad del anticuerpo IgG ante la h-tTG puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

<u>Reactividad</u>	<u>(CU)</u>
Negativa	< 20
Positiva débil	20-30
Positiva	> 30

La reactividad expresada en CU está directamente relacionada con la valoración de los autoanticuerpos presentes en la muestra del paciente. Los aumentos y disminuciones de la concentración de autoanticuerpos de los pacientes se reflejarán en un correspondiente aumento o disminución del valor de CU, que es proporcional a la cantidad de anticuerpo.

El rango de medición analítica (AMR) del ensayo (determinado por los puntos mínimo y máximo de la curva maestra) va de 3,75 CU a 2.560,0 CU, que corresponde al rango lineal del ensayo. Si el resultado de un paciente es inferior a 3,75 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “< 3,8 CU”. Dado que es un valor inferior a 20 CU, el resultado se considera negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 2.560,0 CU, el sistema BIO-FLASH lo indicará como “> 2.560,0 CU”. Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada Auto-Rerun (“reanálisis automático”). Cuando esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a

analizar automáticamente todas las muestras cuyo resultado sea > 2.560,0 CU, después de efectuar una dilución adicional en un factor de 10 para que el valor medido se encuentre dentro del AMR. El software calculará el resultado final teniendo en cuenta el factor de dilución adicional aplicado. Dado que el máximo valor que puede medirse es 2.560,0 CU, el valor más alto que puede notificarse es 25.600 CU.

Interpretación de los resultados

Se aconseja que cada laboratorio verifique el intervalo de referencia indicado por el fabricante y, si lo considera necesario, establezca su propio intervalo normal a partir de sus propios controles y su población de pacientes, de acuerdo con sus procedimientos particulares.

Es recomendable que los resultados comunicados por el laboratorio incluyan la información siguiente: “Los siguientes resultados se han obtenido mediante el inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA FLASH h-tTG IgG de INOVA. Es posible que los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes no sean intercambiables con dichos resultados”.

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con celiaquía o dermatitis herpetiforme presentan un resultado positivo con respecto a los autoanticuerpos IgG anti-h-tTG. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con datos clínicos y otras pruebas serológicas.
2. Los resultados de este ensayo deben utilizarse junto con los datos clínicos y otras pruebas serológicas.
3. Si la resuspensión de las partículas recubiertas de h-tTG no se efectúa de un modo adecuado, pueden obtenerse resultados inferiores en comparación con los análisis que han tenido una resuspensión adecuada.
4. Las características de funcionamiento de este ensayo no se han establecido para matrices de muestras distintas del suero.

Valores esperados

El punto de corte del ensayo se ha determinado analizando 446 muestras caracterizadas clínicamente (extracciones simples en pacientes con un diagnóstico claro de celiaquía o ausencia de celiaquía y que no seguían una dieta sin gluten). Estas muestras (117 clínicamente positivas y 329 clínicamente negativas) se han utilizado para ajustar el punto de corte a 20 CU a fin de optimizar la sensibilidad y especificidad en los valores 49,6% y 97,6%, respectivamente, en este grupo de preparación del análisis.

Comparación de métodos con un instrumento destinado al mismo fin

Las muestras usadas en la comparación de métodos fueron las de los estudios de validación clínica (pacientes con celiaquía, sin celiaquía y con dermatitis herpetiforme) que se encontraban dentro del rango notificable del ensayo. Dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash h-tTG IgG y también con un ELISA destinado al mismo fin.

Comparación de métodos (N = 111)		ELISA h-tTG IgG			Porcentaje de concordancia (confianza del 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash® h-tTG IgG CIA	Positivo	37	0	37	Conc. positiva = 90,2% (76,9-97,3%)
	Negativo	4*	70	74	Conc. negativa = 100% (94,9-100%)
	Total	41	70	111	Conc. total = 96,4 (91-98,6%)
* Tres pacientes (2 con DH y 1 con celiaquía) fueron positivos bajos con el ELISA. El cuarto paciente procedía del grupo sin celiaquía.					

Sensibilidad y especificidad clínicas

El estudio de validación clínica contó con 199 donantes de sangre normales, 71 controles sin celiacía, 68 muestras procedentes de un seminario sobre la tTG (18 controles con celiacía y 50 sin celiacía), 23 muestras celíacas adicionales extraídas de la biblioteca de sueros de INOVA y 7 con celiacía conocida con deficiencia selectiva de IgA. Estas muestras se analizaron mediante el CIA QUANTA Flash h-tTG IgG. Los resultados del análisis son los siguientes:

Datos clínicos (N = 368)		Diagnóstico			Sensibilidad y especificidad (confianza del 95%)
		Celiacía	Sin celiacía	Total	
QUANTA Flash® h-tTG IgG CIA	Positivo	24	4*	28	Sensibilidad = 50,0% (35,2-64,8%)
	Negativo	24**	316	340	Especificidad = 98,4% (96,4-99,5%)
	Total	48	320	368	

* Tres pacientes procedían de un grupo de donantes de sangre normales; dos de ellos también dieron positivo en los ELISA tTG IgA y DGP IgG/A. El cuarto paciente fue positivo para anticuerpos IgA contra *H. pylori*.
 ** Doce pacientes fueron también negativos en el ELISA tTG IgG y 1 fue positivo bajo, mientras que los 11 pacientes restantes no se analizaron mediante ELISA.

En la tabla siguiente se muestran los resultados de los 7 pacientes con celiacía y deficiencia selectiva de IgA.

Celiacía con deficiencia de IgA (N = 7)		Diagnóstico			Análisis (confianza del 95%)
		Celiacía	Sin celiacía	Total	
QUANTA Flash® h-tTG IgG CIA	Positivo	6	0	6	Sensibilidad = 85,7% (42,1-99,6%)
	Negativo	1*	0	1	
	Total	7	0	7	

* Esta muestra fue positivo bajo en el ELISA IgG tTG.

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash h-tTG IgG se ha evaluado analizando 7 pacientes según el documento EP5-A2 del CLSI; la tabla siguiente resume los datos obtenidos:

Muestra	N	Media (CU)	Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
			DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV
Pt A	88	781,6	26,9	3,4%	21,6	2,8%	44,9	5,7%	56,7	7,2%
Pt B	88	46,7	1,7	3,5%	1,5	3,3%	2,7	5,9%	3,5	7,6%
Pt C	88	21,0	0,7	3,3%	0,8	4,0%	1,1	5,1%	1,5	7,2%
Pt D	88	25,0	0,8	3,3%	1,0	4,1%	1,3	5,3%	1,9	7,4%
Pt E	88	34,0	1,1	3,1%	1,8	5,4%	2,0	5,9%	2,9	8,6%
Pt F	88	20,6	0,8	3,9%	0,6	2,8%	1,2	5,7%	1,5	7,4%
Pt G	88	13,8	0,6	4,1%	0,4	2,8%	0,6	4,2%	0,9	6,6%

Rango de medición analítica: límites y linealidad

El límite inferior de detección de este ensayo, determinado según el documento EP17-A del CLSI, es de 582 RLU, que se encuentra muy por debajo del mínimo del AMR (3,8 CU). El AMR completo, que va de 3,8 CU a 2.560,0 CU, es lineal. Se ha realizado un estudio de linealidad siguiendo el documento EP6-A del CLSI y los datos obtenidos son los siguientes:

Muestra	Rango analítico (CU)	Pendiente (IC del 95%)	Intersección en Y (IC del 95%)	R ²
1	De 8,5 a 286,6	1,02 (de 0,97 a 1,07)	2,2 (de -5,19 a 9,58)	0,99
2	De 10,0 a 191,7	1,12 (de 1,02 a 1,22)	-2,63 (de -12,05 a 6,80)	0,98
3	De 54,5 a 1.624,8	1,05 (de 0,99 a 1,10)	-6,40 (de -52,19 a 39,41)	0,99
4	De 6,2 a 40,3	1,09 (de 0,97 a 1,22)	-1,25 (de -4,14 a 1,63)	0,98
5	De 5,1 a 7,8	1,37 (de 0,70 a 2,05)	-2,80 (de -7,08 a 1,49)	0,93
6	De 16,0 a 468,0	1,03 (de 1,00 a 1,07)	-12,70 (-21,90 a -3,50)	1,00
7	De 857,0 a 3.407,0	1,23 (de 0,98 a 1,48)	-880,6 (de -1.418,2 a -280,0)	0,96

Calibrators

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

Los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgG están destinados a utilizarse con el inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash h-tTG IgG en el instrumento BIO-FLASH. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo utilizada en la determinación de los valores de las unidades de quimioluminiscencia (CU) para la medición de anticuerpos IgG anti-h-tTG en suero.

Resumen y principios del procedimiento

El CIA QUANTA Flash h-tTG IgG emplea una curva maestra predefinida específica de cada lote que se guarda en el código de barras del cartucho de reactivos. Los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgG están diseñados para generar una curva de trabajo específica para el instrumento a partir de los parámetros de la curva maestra, con un punto de decisión basado en las características operativas y en la evaluación clínica del CIA QUANTA Flash h-tTG IgG. Los calibradores se analizan en varios instrumentos con diversos lotes de reactivos antes de efectuar la asignación de valores.

Reactivos

1. Calibrador QUANTA Flash h-tTG IgG 1: Dos (2) tubos etiquetados con código de barras que contienen 0,3 mL de reactivo prediluido listo para utilizarse. Los calibradores contienen anticuerpos humanos anti-h-tTG con estabilizantes y conservantes.
2. Calibrador QUANTA Flash h-tTG IgG 2: Dos (2) tubos etiquetados con código de barras que contienen 0,3 mL de reactivo prediluido listo para utilizarse. Los calibradores contienen anticuerpos humanos anti-h-tTG con estabilizantes y conservantes.

Advertencias

1. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los calibradores para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente al VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia del VIH, el VHB, el VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgG deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.¹⁰
2. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
3. Los derrames de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente cuando elimine residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los calibradores QUANTA Flash h-tTG IgG están destinados a utilizarse con el ensayo QUANTA Flash h-tTG IgG.
3. No transfiera los reactivos de los calibradores a otros tubos. El instrumento utiliza los códigos de barras de los tubos para ajustar los calibradores al tipo de análisis adecuado.
4. Los tubos del calibrador, una vez abiertos, pueden utilizarse durante 8 horas si se mantienen destapados y cargados en el instrumento; transcurrido este tiempo, el reactivo debe desecharse.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado

o un aclarado inadecuados del instrumento. Los restos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Limpie siempre el instrumento siguiendo las recomendaciones indicadas en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de conservación

1. Guarde los calibradores no abiertos a una temperatura entre 2 y 8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y se manipulan tal como está indicado.
2. Los calibradores abiertos deben desecharse al cabo de 8 horas.

Procedimiento

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Cada calibrador debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los tubos de ambos calibradores y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en el carrusel de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del calibrador e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de uso detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.
3. El instrumento analizará cada calibrador por triplicado. Una vez analizados los calibradores, el software solicitará la validación de la calibración. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón de flecha **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **Calibration Ctrl-F3**. En la ventana de calibración, marque el ensayo deseado y haga clic en **Details**.
4. En la ventana que se abrirá, **Calibration Details**, seleccione la calibración que acaba de efectuar. La curva maestra se visualizará como una línea discontinua y la nueva curva de trabajo, como una línea continua. Si los resultados de la calibración son válidos, en la parte inferior izquierda de la pantalla aparecerá un botón de validación. Haga clic en el botón **Validate Calibration**.
5. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse. Se recomienda analizar los controles QUANTA Flash h-tTG IgG (vendidos por separado; número de producto: 701107) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

Actualmente, no existe ningún estándar internacional reconocido para la medición de anticuerpos IgG contra la transglutaminasa tisular humana.

Limitaciones

Estos calibradores están diseñados para realizar 4 calibraciones. El tiempo máximo durante el que los tubos del calibrador pueden permanecer destapados y cargados en el instrumento es de 8 horas. Si los calibradores permanecen destapados en el instrumento durante más de 8 horas, deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de calibrador durante más de 8 horas, es posible que la calibración del ensayo sea incorrecta, lo que puede generar resultados erróneos.

Controls

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

Los controles QUANTA Flash h-tTG IgG están destinados al control de calidad de los análisis efectuados mediante el kit de inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash h-tTG IgG en un instrumento BIO-FLASH.

Resumen y principios del procedimiento

Los controles QUANTA Flash h-tTG IgG están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos IgG anti-h-tTG. El control negativo y el control positivo se emplean para monitorizar el rendimiento analítico del inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA Flash h-tTG IgG.

Reactivos

1. Control negativo QUANTA Flash h-tTG IgG: Dos (2) tubos etiquetados con código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para usar. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-h-tTG con estabilizantes y conservantes.
2. Control positivo QUANTA Flash h-tTG IgG: Dos (2) tubos etiquetados con código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para usar. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-h-tTG con estabilizantes y conservantes.

Advertencias

1. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha dado un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos contra el VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia del VIH, el VHB, el VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los controles QUANTA Flash h-tTG IgG deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.¹⁰
2. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
3. Los derrames de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente cuando elimine residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los controles QUANTA Flash h-tTG IgG están destinados a utilizarse con el ensayo QUANTA Flash h-tTG IgG.
3. No transfiera los reactivos de los controles a otros tubos. El instrumento utiliza los códigos de barras de los tubos para identificar al control.
4. Cada tubo de control, una vez abierto, es válido para 15 usos como máximo y **en cada uso** puede permanecer una media de **10 minutos** cargado en el instrumento, hasta un total de 2,5 horas.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o un aclarado inadecuados del instrumento. Los restos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Limpie siempre el instrumento siguiendo las recomendaciones indicadas en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los controles no abiertos entre 2 y 8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y se manipulan tal como está indicado.
2. Los controles están diseñados para 15 usos, permaneciendo una media de 10 minutos cargados en el instrumento en cada uso. El tiempo total durante el que los tubos del control pueden permanecer destapados, una vez cargados en el instrumento, es de 2,5 horas. Si los controles, cargados en el instrumento, se dejan destapados durante más de 2,5 horas en total, deben desecharse.
3. Para conseguir una estabilidad óptima, retire los controles del sistema inmediatamente después de tomar las muestras y almacénelos tapados, entre 2 y 8 °C, en el vial original.

Procedimiento

Para crear nuevos materiales de control de calidad para el ensayo h-tTG IgG:

1. Antes de utilizar los controles QUANTA Flash h-tTG IgG por primera vez en el instrumento, introduzca en el software el nombre, el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón de flecha **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Haga clic en el botón **New QC Material**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica del lote. En primer lugar, introduzca el nombre, el número de lote y la caducidad de esta hoja de datos en el software. A continuación, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, compruebe que está marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo h-tTG IgG en la lista y haga clic en **Add**. Por último, introduzca la dosis objetivo y la DE objetivo. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Para crear un nuevo lote para los materiales de control de calidad existentes:

1. Antes de utilizar un nuevo lote de los controles QUANTA Flash h-tTG IgG por primera vez, introduzca en el software el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón de flecha **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo h_tTG_IgG en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado a la derecha ("TTGGN" para el control negativo o bien "TTGGP" para el control positivo). Haga clic en el botón **New QC Lot**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica del lote. Introduzca la información de esta hoja de datos en el software. Dicha información debe comprender el número de lote, la caducidad, la dosis objetivo y la DE objetivo. Si es necesario, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, compruebe que está marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo h-tTG IgG en la lista y haga clic en **Add**. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Se recomienda utilizar los controles QUANTA Flash h-tTG IgG una vez cada día en que se utilice el ensayo, aunque los usuarios también deben tener en cuenta los requisitos de la legislación nacional y local.

Cada control debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los tubos de ambos controles y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en el carrusel de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del control e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.

Trazabilidad

Actualmente, no existe ningún estándar internacional reconocido para la medición de anticuerpos IgG contra la transglutaminasa tisular humana.

Limitaciones

Estos controles están diseñados para 15 usos. La etiqueta de cada tubo de control posee una fila de 15 casillas que pueden marcarse para realizar un seguimiento del número de usos. El tiempo total durante el que los tubos del control pueden permanecer destapados, una vez cargados en el instrumento, es de 2,5 horas. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante más tiempo deben desecharse.

Bibliografía

1. JS: **Celiac Sprue**. *New England Journal of Medicine* 1991, **325**:1709-1719.
2. Strober W: **Gluten-sensitive enteropathy: A nonallergic immune hypersensitivity of the gastrointestinal tract**. *J Allergy Clin. Immunol.* 1986, **78**: 202-211.
3. McMillan SA, Haughton DJ, Biggart JD, Edgar JD, Porter KG, McNeill TA: **Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium and jejunum in patients attending for jejunal biopsy**. *BMJ* 1991, **303**: 1163-1165.
4. Valdimarsson T, Franzen L, Grodzinsky E, Skogh T, Ström M: **Is small bowel biopsy necessary in adults with suspected celiac disease and IgA anti-endomysial antibodies? 100% positive predictive value for celiac disease in adults**. *Digestive Diseases and Science* 1996, **41**: 83-87.
5. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK: **Revised criteria for diagnosis of celiac disease: Report of working group of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN)**. *Arch Diseases of Childhood* 1990, **65**: 909-911.
6. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D: **Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease**. *Nature Medicine* 1997, **3**: 797-801.
7. Sárdy M, Odenthal U, Kárpáti S, Paulsson M, Smyth N: **Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy**. *Clin Chem* 1999, **45**: 2142-2149.
8. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, Marzari R, Tommasini A, Bradbury A, Fasano A, Ventura A, Not T: **Human recombinant tissue transglutaminase ELISA : an innovative diagnostic assay for celiac disease**. *Am J Gastroenterology* 2000, **95**: 1253-1257.
9. Villalta D, Alessio MG, Tampoia M, Tonutti E, Brusca I, Bagnasco M, Pesce G, Bizzaro N: **Diagnostic accuracy of IgA anti-tissue transglutaminase antibody assays in Celiac disease patients with selective IgA deficiency**. *Ann NY Acad Sci* 2007, **1109**: 212-220.
10. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL), 5.ª edición**. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health 2007.

Símbolos utilizados

	Producto sanitario para diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Consulte las instrucciones de uso
	Límites de temperatura
	No reutilizar
	Riesgos biológicos
	Código del lote
	Número de catálogo
	Caducidad
	Fabricante
	Representante autorizado
	Contenido suficiente para < n > análisis
	Control positivo
	Control negativo
	Calibrador 1
	Calibrador 2
	Caja de cartón reciclable
	Mantener en esta posición

QUANTA Flash es una marca comercial registrada de INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH es una marca comercial registrada de Biokit SA © 2013

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
Estados Unidos de América

Servicio técnico (solo para EE. UU. y Canadá): 877-829-4745
Servicio técnico (fuera de EE. UU.): 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Representante autorizado en la UE:
Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Alemania
Tel.: +49-6894-581020
Fax: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621105ESP

Diciembre de 2013
Revisión 2

