

Reactivos

Para uso diagnóstico *In Vitro*

SOLO PARA EXPORTACIÓN. NO COMERCIALIZABLE EN ESTADOS UNIDOS.

Uso previsto

El QUANTA Flash Ro60 es un inmunoensayo por quimioluminiscencia para la determinación semicuantitativa de autoanticuerpos anti-Ro60 (SS-A 60) en suero humano. La presencia de autoanticuerpos anti-Ro60 sirve de ayuda en el diagnóstico del lupus eritematoso sistémico (LES) y del síndrome de Sjögren, junto con datos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

Resumen y explicación de la prueba

Dado que los anticuerpos antinucleares (ANA) se encuentran en una gran variedad de enfermedades del tejido conjuntivo, permiten realizar ensayos de detección sensibles.¹

Los sueros positivos para los ANA reaccionan con varios antígenos nucleares diferentes, incluidas las ribonucleoproteínas nucleares pequeñas, como el antígeno A (SS-A)/Ro del síndrome de Sjögren. El anticuerpo anti-Ro, descrito por primera vez en el lupus eritematoso sistémico (LES) y el síndrome de Sjögren (SS), presenta la especificidad más prevalente entre los anticuerpos contra los antígenos nucleares extraíbles (ENA).¹⁻⁴ Se han descrito dos tipos de anticuerpos anti-Ro, el anti-SS-A 52 kDa (Ro52) y el anti-SS-A 60 kDa (Ro60), cada uno de ellos específico para diferentes antígenos. Históricamente, estos autoanticuerpos se han considerado un sistema de autoanticuerpos uniforme. Sin embargo, varios estudios recientes han demostrado que el Ro60 y el Ro52 no forman parte de un complejo macromolecular estable y que los anticuerpos anti-Ro52 y anti-Ro60 presentan distintas asociaciones clínicas.²

Los anticuerpos Ro60 reaccionan con una proteína de unión al ARN de 60 kDa y se detectan con frecuencia junto a los anticuerpos anti-Ro52 y anti-SS-B. Los autoanticuerpos anti-Ro60 se encuentran en el 30-50% de los pacientes con LES y en el 50-80% de los pacientes con síndrome de Sjögren.^{1-4,6,7} Los anticuerpos anti-Ro60 también se han detectado en pacientes con características clínicas de LES que son negativos para ANA.⁸ Un resultado positivo para anticuerpos anti-Ro60 es uno de los tres criterios indicados en la lista de criterios de clasificación del American College of Rheumatology para el síndrome de Sjögren.⁹ Asimismo, tanto los anticuerpos anti-Ro60 como los anti-Ro52 presentan un significado diagnóstico especial en el bloqueo cardíaco congénito. El bloqueo auriculoventricular completo congénito aislado (CAVB) muestra una estrecha asociación con los anticuerpos anti-Ro y anti-SSB maternos.¹⁰⁻¹²

Es importante destacar que la reactividad simple a Ro52 o Ro60 puede omitirse cuando se determina mediante un ELISA clásico basado en una mezcla de ambos antígenos. Aproximadamente el 20% de las muestras positivas para Ro52 o Ro60 pueden pasar desapercibidas si se utiliza una mezcla de ambos antígenos.⁵ Por tanto, es importante realizar por separado un análisis de detección de estas especificidades.

Se han utilizado varios métodos, incluidas la doble difusión de Ouchterlony y la hemoaglutinación pasiva, para detectar anticuerpos anti-Ro60. También se han desarrollado ensayos ELISA con utilidad clínica. El QUANTA Flash Ro60 es un inmunoensayo por quimioluminiscencia muy sensible para la detección y la determinación de anticuerpos anti-Ro60 que proporciona resultados semicuantitativos en un amplio rango de medición analítica y ofrece la comodidad de un acceso aleatorio, una carga continua de muestras y un corto tiempo de análisis.

Principios del procedimiento

Se recubren partículas paramagnéticas con antígeno Ro60 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.

Se diluye una muestra de suero del paciente en el instrumento usando líquido de lavado del sistema en una cubeta desechable de plástico. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, las partículas de Ro60 y el tampón de análisis. Esta cubeta se incuba a 37 °C y, después, se magnetizan las partículas y se lavan varias veces. A continuación, se añaden anticuerpos anti-IgG humana conjugados 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 anti-Ro60 unidos al Ro60 en las partículas.

El ensayo QUANTA Flash Ro60 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 en RLU obtenido para cada muestra.

Reactivos

1. El cartucho de reactivos del QUANTA Flash Ro60 contiene los siguientes reactivos para 50 determinaciones:
 - a. Partículas paramagnéticas recubiertas de Ro60, 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 y 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 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. Una vez abierto, el cartucho de reactivos debe almacenarse en la bandeja de reactivos del instrumento. La colocación del cartucho de reactivos en el instrumento por primera vez debe realizarse con todo cuidado para no derramar los reactivos.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o 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 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 manipulan como está indicado.
2. Los cartuchos de reactivos abiertos deben guardarse cargados en el instrumento y permanecen estables durante 37 días, tras lo cual deben desecharse. El software BIO-FLASH supervisa las fechas de caducidad de los cartuchos cargados, así como las de los lotes de cartuchos de reactivos.

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 por calor o que contengan partículas visibles. 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 debe preparar las muestras para enviarlas, 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 Ro60
- 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 Ro60 (número de componente: 701146)

Controles QUANTA Flash Ro60 (número de componente: 701147)

Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

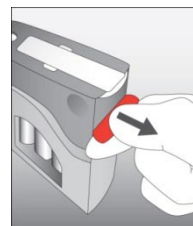
1. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos a este ensayo, póngase en contacto 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 elimine de forma adecuada las cubetas usadas. Vuelva a colocar el recipiente de residuos sólidos en su lugar, 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. Deposite todas las cubetas en el 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 en su lugar 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 ventana que aparecerá, **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

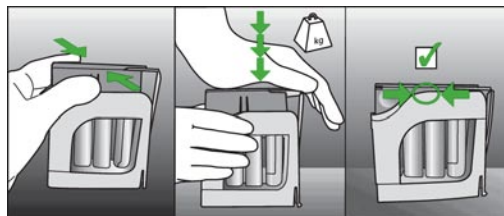
Preparación del cartucho de reactivos

La primera vez que se usa 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 observa signos de que esté dañado.

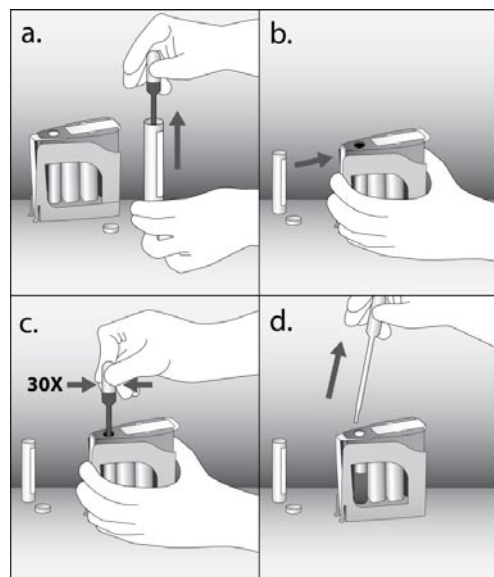
1. Coloque el cartucho de reactivos sobre una superficie sólida. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra mano, agarre con fuerza la pestaña roja de la parte posterior del cartucho de reactivos y tire de ella completamente.



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



3. Resuspenda las micropartículas de Ro60:
 - 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 a la posición abierta y manténgala así. 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 partículas, 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 cartuchos de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Consulte el apartado **Calibradores QUANTA Flash® Ro60 701146** de este 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. Escanee o escriba el nombre de la muestra, indique el tipo de muestra, elija el tipo de recipiente (tubo/copa) y seleccione Ro60 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 esta 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 Ro60 (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701147) contienen los controles positivos y negativos para Ro60. Consulte el apartado **Controles QUANTA Flash® Ro60 701147** 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

INOVA genera una curva maestra de cinco puntos para cada nuevo lote del QUANTA Flash Ro60. Esta curva logística de cuatro parámetros se codifica mediante el código de barras de cada cartucho de reactivos. Una vez calibrado un cartucho de reactivos, se utilizará una curva de trabajo específica del instrumento para convertir las RLU a CU. La reactividad del anticuerpo frente al Ro60 puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

<u>Reactividad</u>	<u>CU</u>
Negativa	<20
Positiva	≥20

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

El intervalo de medición analítica (AMR) del ensayo va de 4,9 CU a 1.374,8 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 4,9 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “< 4,9 CU”. Dado que es un valor inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 1.374,8 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “> 1.374,8 CU”. Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada Auto-Rerun. Si esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a analizar de manera automática cualquier muestra con un resultado superior a 1.374,8 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 20 y calculará las CU utilizando este factor de dilución adicional. La función Auto-Rerun amplía el intervalo notificable a 27,496 CU.

Interpretación de los resultados

El ensayo QUANTA Flash permite detectar pequeñas diferencias en las poblaciones de pacientes. Se aconseja que cada laboratorio verifique el intervalo de referencia indicado por el fabricante y, si lo desea, 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 Ro60 de INOVA. Es posible que los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes no sean intercambiables con dichos resultados. La magnitud de los niveles de autoanticuerpos obtenidos no siempre puede correlacionarse con una valoración de punto final”.

Trazabilidad

No está disponible ningún suero de referencia internacional para los anticuerpos anti-Ro60 que permita estandarizar los ensayos con estos anticuerpos. En su lugar, se ha analizado el suero de referencia del Center of Disease Control and Prevention para anticuerpos anti-Ro60 (IS2076 ANA núm.7 anti-SS-A/Ro) y se ha determinado una concentración > 1.374,8 CU.

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con LES o síndrome de Sjögren son positivos para los anticuerpos anti-Ro60.
2. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con datos clínicos y otras pruebas serológicas.
3. Si la resuspensión de las partículas recubiertas de Ro60 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.

Intervalo de referencia

El límite de detección del ensayo se ha determinado utilizando 156 muestras de sujetos de referencia: 115 muestras de donantes de sangre aparentemente sanos (15 hombres y 100 mujeres; edades: 19-69), 8 muestras positivas para la hepatitis vírica (6 hombres y 2 mujeres; edades: 19-54), 5 muestras positivas para la sífilis (1 hombre y 4 mujeres; edades: 27-57), 5 muestras positivas para el VIH (4 hombres y 1 mujer; edades: 28-51) y 23 muestras de AR (los datos de edad y sexo no están disponibles). El límite de detección se ha establecido como superior al percentil 99 de los resultados obtenidos en los sujetos de referencia y se le ha asignado un valor de 20 CU.

Valores esperados

El valor esperado en la población normal es “negativo”. Los niveles de autoanticuerpo anti-Ro60 se han analizado en una cohorte de 98 donantes de sangre aparentemente normales (52 mujeres y 46 hombres; edades: 17-60) utilizando el QUANTA Flash Ro60. Con el límite de detección de 20 CU, dos de las muestras (un 2,0%) fueron positivas en el QUANTA Flash Ro60. La concentración media fue de 6,1 CU y los valores oscilaron entre < 4,9 CU y 84,8 CU.

Sensibilidad y especificidad clínicas

En el estudio de validación clínica se utilizaron en total 361 muestras, que incluyen 100 muestras de pacientes con LES y 39 de pacientes con síndrome de Sjögren. Como controles se emplearon 20 muestras de pacientes con artritis reumatoide, 20 con enfermedad tiroidea autoinmune, 11 con enfermedad celíaca, 40 con otras enfermedades reumáticas sistémicas y artropatías y 33 con diferentes enfermedades infecciosas.

La sensibilidad y especificidad clínicas para el SS (n = 39) y el LES (n = 100), usando la población de control (n = 124), se calcula en las dos tablas siguientes:

Sensibilidad y especificidad clínicas del QUANTA Flash Ro60 en el SS:

Análisis clínico n = 163		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		SS	Sin SS	Total	
QUANTA Flash® Ro60	Positivo	26	2	28	Sensibilidad = 66,7% (49,8-80,9%)
	Negativo	13	122	135	Especificidad = 98,4% (94,3-99,8%)
	Total	39	124	163	

Sensibilidad y especificidad clínicas del QUANTA Flash Ro60 en el LES:

Análisis clínico n = 224		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		LES	Sin LES	Total	
QUANTA Flash® Ro60	Positivo	26	2	28	Sensibilidad = 26,0% (17,7-35,7%)
	Negativo	74	122	196	Especificidad = 98,4% (94,3-99,8%)
	Total	100	124	224	

Comparación de métodos con un instrumento destinado al mismo fin

Las muestras para el análisis de comparación de métodos han sido aquellas muestras de los estudios de validación clínica (pacientes con SS y LES, otros controles de enfermedad y donantes de sangre aparentemente sanos) que se encontraban dentro del intervalo notificable del ensayo. Dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash Ro60 y un ELISA destinado al mismo fin. Los datos se presentan de dos maneras: con las muestras de ELISA dudosas como negativas en la primera tabla y, después, como positivas en la tabla siguiente.

Comparación de métodos (N = 77) Muestra de ELISA dudosa como negativa		ELISA Ro60			Porcentaje de concordancia (intervalo de confianza: 95%)
		Negativo	Positivo	Total	
QUANTA Flash® Ro60	Negativo	21	1	22	Conc. pos. = 98,0% (89,1-99,9%)
	Positivo	7	48	55	Conc. neg. = 75,0% (55,1-89,3%)
	Total	28	49	77	Conc. total = 89,6% (80,6-95,4%)

Comparación de métodos (N = 77) Muestra de ELISA dudosa como positiva		ELISA Ro60			Porcentaje de concordancia (intervalo de confianza: 95%)
		Negativo	Positivo	Total	
QUANTA Flash® Ro60	Negativo	20	2	22	Conc. pos. = 96,1% (86,5-99,5%)
	Positivo	6	49	55	Conc. neg. = 76,9% (56,4-91,0%)
	Total	26	51	77	Conc. total = 89,6% (80,6-95,4%)

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash Ro60 se ha evaluado analizando 9 muestras de suero según el documento EP5-A2 del CLSI. Los datos obtenidos se resumen a continuación:

Muestra	N	Media	Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
			DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV
1	96	797.9	36.77	4.6	50.19	6.3	20.78	2.6	65.6	8.2
2	96	26.0	1.06	4.1	2.51	9.6	0.00	0.0	2.73	10.5
3	84	12.4	0.35	2.9	0.36	2.9	0.10	0.8	0.51	4.1
4	96	188.0	10.84	5.8	12.04	6.4	0.00	0.0	16.20	8.6
5	96	69.1	1.82	2.6	1.81	2.6	0.58	0.8	2.63	3.8
6	88	409.1	15.01	3.7	13.99	3.4	7.75	1.9	21.93	5.4
7	92	23.4	0.85	3.6	1.21	5.2	0.18	0.8	1.49	6.4
8	96	9.0	0.29	3.2	0.56	6.2	0.15	1.6	0.65	7.1
9	96	20.8	1.08	5.2	1.29	6.2	0.30	1.5	1.70	8.2

Rango de medición analítica: límites y linealidad

El rango de medición analítica (AMR) del ensayo va de 4,9 CU a 1.374,8 CU.

Si la opción Auto-Rerun está activada, el instrumento volverá a analizar de manera automática cualquier muestra con un resultado superior a 1.374,8 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 20 y calculará las CU utilizando este factor de dilución adicional. La función Auto-Rerun amplía el intervalo notificable a 27,496 CU.

El límite de detección de este ensayo es 527 RLU, un valor inferior al AMR del ensayo (4,9 CU). Se ha determinado que es consistente con la directriz EP17-A del CLSI, con una proporción de falsos positivos (α) y de falsos negativos (β) inferior al 5%.

El AMR completo, que va de 4,9 CU a 1.374,8 CU, es lineal. Se ha realizado un estudio de linealidad conforme al documento EP6-A del CLSI utilizando cuatro muestras de suero con diferentes concentraciones de anticuerpo anti-Ro60. Las cuatro muestras presentaron linealidad de dilución individualmente, y los datos combinados generaron los resultados siguientes con regresión lineal:

Muestra	Intervalo analítico (CU)	Pendiente (IC del 95%)	Intersección en Y (IC del 95%)	R ²
Todas las muestras	De 3,6 a 1.370,1	1,00 (de 0,98 a 1,01)	1,69 (de -4,58 a 7,95)	1.00

Interferencia y reactividad cruzada

No se ha detectado interferencia con una concentración de hemoglobina de hasta 200 mg/dL, de triglicéridos de hasta 1.000 mg/dL, de colesterol de hasta 224,3 mg/dL, de bilirrubina de hasta 10 mg/dL y de IgM anti-RF de hasta 500 IU/mL.

Se han analizado cien muestras de pacientes con diversas enfermedades autoinmunes e infecciosas para evaluar la reactividad cruzada. Una muestra de un paciente con artritis reumatoide ha sido positiva en el CIA QUANTA Flash Ro60.

Calibradores

Para uso diagnóstico *In Vitro*

SOLO PARA EXPORTACIÓN. NO COMERCIALIZABLE EN ESTADOS UNIDOS.

Uso previsto

Los calibradores QUANTA Flash Ro60 están destinados a utilizarse con los reactivos QUANTA Flash Ro60 para la determinación de autoanticuerpos IgG anti-Ro60 en suero humano. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo que se emplea para calcular los valores unitarios.

Resumen y principios del procedimiento

El inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash Ro60 usa una curva maestra predefinida específica de cada lote que se guarda en el código de barras del cartucho de reactivos. Los calibradores QUANTA Flash Ro60 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 de rendimiento y en la evaluación clínica del CIA QUANTA Flash Ro60. Los calibradores se analizan en varios instrumentos con diversos lotes de reactivos antes de efectuar la asignación de valores.

Reactivos

1. Calibrador 1 del QUANTA Flash Ro60: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,3 mL de reactivo prediluido listo para usar. Los calibradores contienen anticuerpos humanos anti-Ro60 con estabilizantes y conservantes.
2. Calibrador 2 del QUANTA Flash Ro60: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,3 mL de reactivo prediluido listo para usar. Los calibradores contienen anticuerpos humanos anti-Ro60 con estabilizantes y conservantes.

Advertencias

1. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los calibradores para este producto se ha analizado y ha arrojado resultados negativos 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 del QUANTA Flash Ro60 deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.¹³
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 del QUANTA Flash Ro60 deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash Ro60.

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. Una vez abiertos los tubos, los calibradores pueden utilizarse durante un máximo de 8 horas o 4 calibraciones; transcurrido este tiempo, los reactivos deben desecharse.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o 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 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 manipulan como está indicado.
2. Los calibradores abiertos deben desecharse al cabo de 8 horas.

Procedimiento

1. Cada nuevo lote de cartuchos 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 dos tubos del calibrador 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 funcionamiento 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 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 **Calibration Details** que se abrirá, 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 Ro60 (vendidos por separado; número de producto: 701147) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

No está disponible ningún suero de referencia internacional para los anticuerpos anti-Ro60 que permita estandarizar los ensayos con estos anticuerpos. En su lugar, se ha analizado el suero de referencia del Center of Disease Control and Prevention para anticuerpos anti-Ro60 (IS2076 ANA núm.7 anti-SS-A/Ro) y se ha determinado una concentración > 1.374,8 CU.

Limitaciones

Estos calibradores están diseñados para realizar 4 calibraciones. El tiempo máximo durante el cual los tubos del calibrador pueden permanecer destapados una vez 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 para más de 4 calibraciones y/o durante más de 8 horas, es posible que la calibración del ensayo sea incorrecta, lo que producirá resultados erróneos..

Controles

Para uso diagnóstico *In Vitro*

SOLO PARA EXPORTACIÓN. NO COMERCIALIZABLE EN ESTADOS UNIDOS.

Uso previsto

Los controles QUANTA Flash Ro60 están destinados a utilizarse con los reactivos QUANTA Flash Ro60 para la determinación de autoanticuerpos IgG anti-Ro60 en suero humano.

Resumen y principios del procedimiento

Los controles QUANTA Flash Ro60 están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos anti-Ro60. El control negativo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles muy bajos de autoanticuerpos. El control positivo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles de autoanticuerpos entre moderados y altos.

Reactivos

1. Control negativo QUANTA Flash Ro60: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para usar. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-Ro60 con estabilizantes y conservantes.
2. Control positivo QUANTA Flash Ro60: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para usar. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-Ro60 con estabilizantes y conservantes.

Advertencias

1. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto se ha analizado y ha arrojado resultados negativos 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 controles QUANTA Flash Ro60 deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.¹³
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 del QUANTA Flash Ro60 deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash Ro60.
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 y puede permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento **en cada uso**.

5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o 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 manipulan como está indicado.
2. Los controles abiertos son válidos para 15 usos y pueden permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento en cada uso. El tiempo máximo durante el cual los tubos de control pueden permanecer destapados, una vez cargados en el instrumento, es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles que permanezcan destapados en el instrumento durante más de 2,5 horas en total deben desecharse. Si se utiliza el mismo tubo de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.
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 Ro60:

1. Antes de utilizar los controles QUANTA Flash Ro60 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 en el software el nombre, el número de lote y la caducidad que figuran en esta hoja de datos. A continuación, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, debe estar marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo Ro60 de 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 controles QUANTA Flash Ro60 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 Ro60 en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en la derecha (“Ro60N” para el control negativo o bien “Ro60P” 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, debe estar marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo Ro60 en la lista y haga clic en **Add**. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Se recomienda utilizar una vez los controles QUANTA Flash Ro60 los días en que se realice el ensayo.

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 dos tubos del control 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

No está disponible ningún suero de referencia internacional para los anticuerpos anti-Ro60 que permita estandarizar los ensayos con estos anticuerpos. En su lugar, se ha analizado el suero de referencia del Center of Disease Control and Prevention para anticuerpos anti-Ro60 (IS2076 ANA núm.7 anti-SS-A/Ro) y se ha determinado una concentración > 1.374,8 CU.

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 controlar el número de usos. El tiempo máximo durante el cual los tubos de control pueden permanecer destapados, una vez cargados en el instrumento, es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante más tiempo deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.

Bibliografía

1. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. **Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists.** *Arch Pathol Lab Med* 2000, **124(1)**:71-81.
2. Egner W. **The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE.** *J Clin Pathol.* 2000, **53(6)**:424-432.
3. Alspaugh MA, N Talal, and EM Tan. **Differentiation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjögren's syndrome.** *Arthritis Rheum.* 1976, **19**:216-222.
4. Alexander EL, Hirsch TJ, Arnett FC, Provost TT, Stevens MB: **Ro(SS-A) and La(SS-B) antibodies in the clinical spectrum of Sjögren's Syndrome.** *J Rheumatology* 1982, **9**: 239-246.
5. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. **Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system.** *Autoimmun Rev.* 2009, **8(7)**:632-637.
6. Sánchez-Guerrero J, Lew RA, Fossel AH, Schur PH. **Utility of anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro/SS-A, and anti-La/SS-B (extractable nuclear antigens) detected by enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum.* 1996, **39(6)**:1055-1061.
7. Moutsopoulos HM, Zerva LV. Anti-Ro (SSA)/La (SSB) antibodies and Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol.* 1990 Mar;**9(1 Suppl 1)**:123-30.
8. Maddison PJ, Provost TT and Reichlin M: **Serological findings in patients with "ANA negative" systemic lupus erythematosus.** *Medicine* 1981, **60**: 87-93.
9. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, Baer AN, Challacombe S, Lanfranchi H, Schjødt M, Umehara H, Vivino F, Zhao Y, Dong Y, Greenspan D, Heidenreich AM, Helin P, Kirkham B, Kitagawa K, Larkin G, Li M, Lietman T, Lindegaard J, McNamara N, Sack K, Shirlaw P, Sugai S, Vollenweider C, Whitcher J, Wu A, Zhang S, Zhang W, Greenspan JS, Daniels TE for the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups: **American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: A Data-Driven, Expert Consensus Approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort.** *American College of Rheumatology* 2012, **64(4)**: 475-487.
10. Kephart DC, Hood AF, Provost TT: **Neonatal lupus erythematosus: New serological findings.** *J Invest Derm* 1981, **77**: 331-333.
11. Friedman DM, Rupel A, Buyon JP. **Epidemiology, etiology, detection, and treatment of autoantibody-associated congenital heart block in neonatal lupus.** *Curr Rheumatol Rep.* 2007, **9(2)**:101-108.
12. Buyon JP. **Neonatal lupus: bedside to bench and back.** *Scand J Rheumatol.* 1996, **25(5)**:271-276.
13. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Símbolos utilizados



Producto sanitario para diagnóstico *In Vitro*



Consulte las instrucciones de uso



Límites de temperatura



No reutilizar



Riesgos biológicos



Código del lote



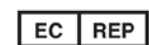
Número de catálogo



Fecha de 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 © 2012

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

621145ESP

Octubre 2012

Revisión 0

