

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. La etiología exacta de la celiaquía es aún desconocida, pero 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 ha producido mediante tecnología recombinante y puede tener ciertas ventajas frente al antígeno de hígado de cobaya.^{7,8}

Muchas personas celíacas que tienen suficiente IgA no desarrollan anticuerpos IgG contra 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 con h-tTG recombinante lechos paramagnéticos que se guardan en el cartucho de reactivos en unas condiciones que mantienen el antígeno en su estado reactivo. Cuando el cartucho de análisis está preparado para ser utilizado por primera vez, se añade una solución de tampón al tubo que contiene los lechos y estos se mezclan con el tampón. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH[®].

Mediante el instrumento se prediluye una muestra de suero de paciente utilizando tampón para muestras añadido a una cubeta de plástico desechable. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, los lechos de h-tTG y el tampón de análisis. Esta cubeta se incuba a 37 °C y, después, las partículas se magnetizan y se lavan varias veces. A continuación, se añade anticuerpo conjugado con isoluminol a la cubeta y esta se incuba a 37 °C. De nuevo, las partículas se magnetizan y se lavan repetidamente. El conjugado de isoluminol produce una reacción luminiscente al añadir a la cubeta los reactivos (“iniciadores”). La luz emitida 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 h-tTG en los lechos.

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. De acuerdo con los resultados del análisis de dos calibradores, se crea una curva de trabajo específica para el instrumento que se usa para calcular las unidades de quimioluminiscencia (CU) a partir de las RLU obtenidas con cada paciente.

Reactivos

1. El cartucho de reactivos del QUANTA Flash h-tTG IgG contiene los reactivos siguientes:
 - a. Lechos paramagnéticos recubiertos de h-tTG, conservados antes del primer uso.
 - b. Tampón de análisis, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.
 - c. IgG trazadora: anticuerpos anti-IgG humana etiquetada con isoluminol que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservante.
 - d. Tampón para muestras: solución salina tamponada con fosfato que contiene Tween 20.
2. Tampón de resuspensión, de color rosa, en un vial que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes.

Advertencias

1. ADVERTENCIA: 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 las 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 vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Ese 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 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 verter los reactivos.
6. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los cartuchos de reactivos no abiertos y el tampón de resuspensión a 2-8 °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 60 días; tras este período, 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 de muestras

Este procedimiento debe realizarse con 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, ictérico 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 2-8 °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 del QUANTA Flash h-tTG IgG
- 1 Tampón de resuspensión de 3 mL
- 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 Calibrators (número de componente: 701106)

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

Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

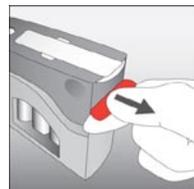
1. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos al ensayo, póngase en contacto 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 elimínelo de forma adecuada. 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**, situado en la parte superior derecha.
 - a. En la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Iniciadores** situado a la izquierda. Se abrirá la ventana **Add Triggers – Remove old bottles**.
 - b. Abra y retire el cajón de residuos del instrumento BIO-FLASH. Tire 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 bottle**, 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 **Residuo líquido**. Extraiga el residuo líquido y tírelo. Haga clic en **Next**. Una vez sustituido el frasco vacío, haga clic en **Finish**.

Método

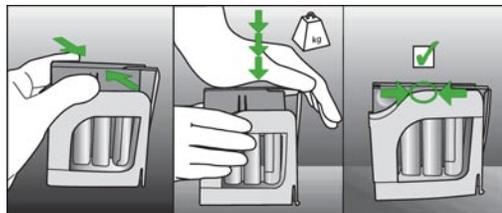
Preparación del cartucho de reactivos

La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, deben perforarse los sellos de almacenamiento de los tubos de reactivos, y los lechos recubiertos de h-tTG deben mezclarse con tampón de resuspensión. Nota: No utilice el cartucho de reactivos si observa algún signo de daño.

1. Coloque el cartucho de reactivos en una superficie sólida. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra mano, agarre con fuerza la anilla 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 deberían quedar ocultas.

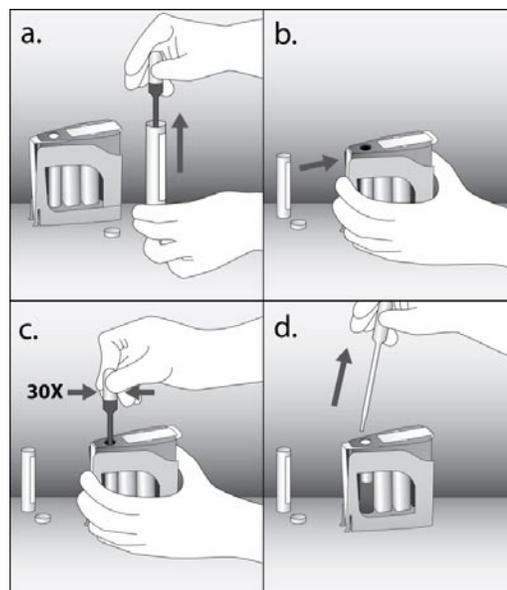


3. Vuelva a suspender las micropartículas de h-tTG:
 - a. Destape el vial de tampón de resuspensión y recoja fluido en la pipeta de transferencia suministrada. Se utilizará todo el contenido del vial.

- b. Deslice la puerta de la tapa del cartucho de reactivos hasta la posición abierta presionando suavemente el lateral estrecho del cartucho de reactivos y manténgala en esta posición. Transfiera analíticamente todo el contenido del vial al tubo de reactivo de micropartículas a través del único orificio 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 de la bandeja de reactivos del instrumento BIO-FLASH. Una vez colocado el cartucho en la bandeja de reactivos, el instrumento realiza mezclas periódicas adicionales de las partículas.

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 Calibradores 701106** 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 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 «IgG h-tTG» 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 carro 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 de inicio para comenzar la sesión de 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 QUANTA Flash h-tTG IgG. Consulte el apartado **QUANTA Flash® h-tTG IgG Controles 701107** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo introducir el valor de la unidad y la desviación estándar 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. Esta curva logística de cuatro parámetros se codifica mediante el código de barras de cada cartucho de reactivos. Tras calibrar un cartucho de reactivos, se utilizará una curva de trabajo específica del dispositivo para convertir las RLU a CU. La reactividad del anticuerpo IgG ante la h-tTG puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

<u>Reactividad</u>	<u>CU</u>
Negativo	<20
Positivo débil	20-30
Positivo	>30

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

El rango notificable del ensayo va de 3,75 CU a 2.560,0 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 3,75 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “< 3,8 CU”. Dado que este valor es inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 2.560,0 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “> 2.560,0 CU”. Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada “Reanálisis automático”. Si esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a analizar de manera automática cualquier muestra con un resultado superior a 2.560,0 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 10 y calculará las CU utilizando este factor de dilución adicional.

Interpretación de los resultados

El ensayo QUANTA Flash permite detectar pequeñas diferencias en las poblaciones de pacientes. Cada laboratorio debe determinar su propio rango normal basándose en los controles y la población de pacientes que utilice, de acuerdo con los procedimientos específicos que establezca.

Es recomendable que los resultados comunicados por el laboratorio incluyan esta información: “Los siguientes resultados se han obtenido mediante el inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA FLASH h-tTG IgG de INOVA. Los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes pueden no ser intercambiables. La magnitud de los niveles de autoanticuerpos IgG notificados no siempre puede correlacionarse con un título de punto final”.

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 análisis deben utilizarse junto con datos clínicos y otras pruebas serológicas.
3. Si la resuspensión de los lechos recubiertos 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 rendimiento de este ensayo no se han establecido para sustratos distintos del suero.

Valores esperados

El límite de detección 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 límite de detección 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 ensayo comercializado con el 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)		h-tTG IgG ELISA			Concordancia (%) (intervalo de confianza: 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash h-tTG IgG	Positivo	37	0	37	Conc. pos. = 90,2% (76,9-97,3%)
	Negativo	4*	70	74	Conc. neg. = 100% (94,9-100%)
	Total	41	70	111	Conc. total = 96,4% (9,1-98,6%)

*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 (intervalo de confianza: 95%)
		Celiacía	Sin celiacía	Total	
QUANTA Flash h-tTG IgG	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 eran también positivos para IgA tTG e IgG/A DGP con ELISA. El cuarto paciente fue positivo para anticuerpos IgA anti-H. pylori.
**Doce pacientes fueron también negativos para IgG tTG con ELISA, y 1 fue positivo bajo, mientras que los 11 pacientes restantes no se analizaron mediante el ELISA.

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

Celiacía con deficiencia de IgA (N = 7)		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		Celiacía	Sin celiacía	Total	
QUANTA Flash* h-tTG IgG	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 de 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:

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

Límites de detección; rangos lineales y notificables

El límite inferior de detección del ensayo, de acuerdo con el documento EP17-A del CLSI, es de 700 RLU, aproximadamente, lo que equivale a 0,6 CU. El límite superior de detección aproximado es de 510.000 RLU. El rango notificable 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 del análisis (CU)	Pendiente (IC del 95%)	Intersección en Y (IC del 95%)	R²
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 (de -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

Calibradores

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. QUANTA Flash h-tTG IgG, calibrador 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. QUANTA Flash h-tTG IgG, calibrador 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 vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de 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 tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para ajustar los calibradores al tipo de ensayo adecuado.
4. Los tubos de los calibradores, una vez abiertos, 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 residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los calibradores no abiertos a 2-8 °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 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 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 la bandeja 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 **Choose more options – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **Calibration Ctrl-F3**. En la ventana 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 maestra, 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 una vez cargados en el instrumento es 8 horas. Si los calibradores destapados permanecen 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*

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 está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles muy bajos de anticuerpos. El control positivo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles de anticuerpos de moderados a altos.

Reactivos

1. QUANTA Flash h-tTG IgG, control negativo: Dos (2) tubos etiquetados con código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para utilizarse. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-h-tTG con estabilizantes y conservantes.
2. QUANTA Flash h-tTG IgG, control positivo: Dos (2) tubos etiquetados con código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para utilizarse. 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 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 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 vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de 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 tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento 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 residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los controles no abiertos a 2-8 °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 que 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 un periodo de tiempo de 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 a 2-8 °C en el vial original.

Procedimiento

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

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 **Choose more options – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. 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, asegúrese de 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 controles QUANTA Flash h-tTG IgG por primera vez, deben introducirse 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 **Choose more options – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo h-tTG IgG en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en 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, asegúrese de 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.

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 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 la bandeja 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 controlar el número de usos. El tiempo máximo durante el que los tubos del control pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es 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. 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**. *Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health* 2007, **Fifth Edition**.

Símbolos utilizados

	Dispositivo médico para diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Consulte las instrucciones de uso
	Límites de temperatura
	No reutilizar
	Riesgos biológicos
	Código del lote
	Número de catálogo
	Utilizar antes del tiempo indicado
	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 EEUU y Canadá): 877-829-4745
Servicio técnico (fuera de EEUU): 00+ 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

Mayo 2012
Revisión 1

