

Reactivos

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

El QUANTA Flash GBM es un inmunoensayo quimioluminiscente (CIA) para la detección semicuantitativa de autoanticuerpos IgG contra la membrana basal glomerular (GBM) en suero humano con el instrumento BIO-FLASH[®]. El QUANTA Flash GBM sirve de ayuda en el diagnóstico del síndrome de Goodpasture en combinación con datos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

Resumen y explicación de la prueba

Se sabe que los autoanticuerpos anti-GBM son importantes en la patogénesis y el diagnóstico de la glomerulonefritis rápidamente progresiva del síndrome de Goodpasture (GPS)¹. Experimentos de transferencia pasiva han determinado que los anticuerpos anti-GBM pueden reproducir los daños en el órgano diana. Si no recibe tratamiento, el GPS puede seguir un curso fulminante, con un rápido deterioro de la función renal, a veces acompañado de hemorragia pulmonar grave. La identificación precoz de estos pacientes conlleva importantes implicaciones en términos de gestión y pronóstico, ya que la inmunoterapia y la plasmaféresis pueden mejorar el resultado si comienzan en una fase suficientemente temprana.² Los análisis de detección de anticuerpos anti-GBM en circulación incluyen la inmunofluorescencia indirecta, el RIA, el ELISA y los ensayos múltiplex.^{3,4}

La membrana basal glomerular está formada por muchas proteínas diferentes. Se ha determinado que la mayoría de autoanticuerpos de los pacientes con GPS reaccionan con la región no colágena (NC1) de la cadena $\alpha 3(\text{IV})$ del colágeno. Los ensayos ELISA que emplean un antígeno específico $\alpha 3(\text{IV})$ han demostrado ser muy sensibles y específicos para el GPS.^{1,4} Los anticuerpos anti-GBM raramente se encuentran en individuos sanos, y los pacientes tratados o en remisión tienden a presentar niveles más bajos de anticuerpos.

Los pacientes con GPS pueden mostrar ciertas características clínicas indicadoras de determinados tipos de vasculitis autoinmunitarias. Por ello, se ha sugerido que la detección de autoanticuerpos anti-GBM se incluya junto con el análisis de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilo (ANCA) como parte del análisis serológico en los pacientes que despiertan sospecha de padecer síndrome renopulmonar. A causa de la naturaleza rápidamente progresiva del GPS, la detección precoz de anticuerpos anti-GBM es de gran importancia para el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes.^{2,3}

Principios del procedimiento

Se recubren con GBM purificada nativa partículas de paramagnéticas 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 invierte varias veces todo el cartucho para mezclar completamente los reactivos. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH[®].

Mediante el instrumento se prediluye una muestra de suero del paciente con líquido de lavado del sistema añadido a una cubeta desechable de plástico. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, las partículas de GBM 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 (URL) mediante el sistema óptico del BIO-FLASH. El número de URL es proporcional a la cantidad de conjugado de isoluminol ligado, que a su vez es proporcional a la cantidad de autoanticuerpos IgG anti-GBM unidos a la GBM en las partículas.

El ensayo QUANTA Flash GBM 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 GBM contiene los siguientes reactivos para 50 determinaciones:
 - a. Partículas paramagnéticas recubiertas de GBM, en un tampón que contiene líquido, estabilizantes de proteínas y conservante.
 - 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.

Advertencias

1. El tampón de análisis 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. Este ensayo solo debe utilizarse con el instrumento BIO-FLASH.
3. 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.
4. 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 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 42 días; tras este período, deben desecharse. El software BIO-FLASH supervisa las fechas de caducidad de los cartuchos cargados, las curvas de calibración y los lotes de cartuchos de reactivos.

Recogida, preparación y manejo de las muestras

Este procedimiento debe realizarse con 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. No debe utilizarse suero muy hemolizado, lipémico o icterico.

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 QUANTA Flash GBM

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 GBM (número de componente: 701141)

Controles QUANTA Flash GBM (número de componente: 701142)

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 **Triggers** 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 – Add bottle**, haga clic en **Finish**. Siga las instrucciones de la ventana que aparecerá, **Inventory – Bulks**. Una vez aceptado el código de barras, haga clic en **Finalizar**, 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 tírelo. Haga clic en **Siguiente**. Una vez sustituido el frasco vacío, haga clic en **Finish**.

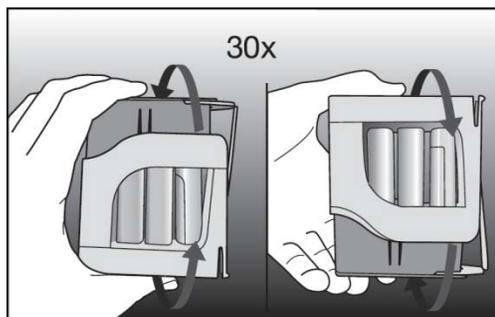
Método

Preparación del cartucho de reactivos

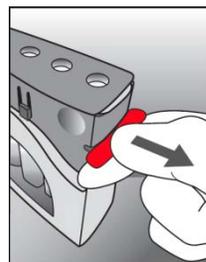
La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, deben seguirse los pasos indicados a continuación para instalar el cartucho con precisión en el instrumento BIO-FLASH. Nota: No utilice el cartucho de reactivos si observa algún signo de daño.

Cartucho de reactivos QUANTA Flash GBM: Durante el envío y el almacenamiento, las micropartículas se depositan y es preciso mezclarlas para volver a suspenderlas.

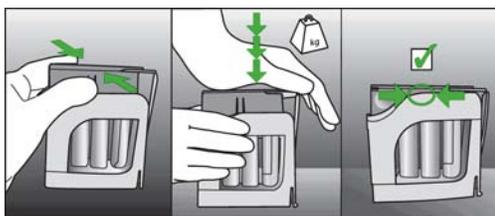
1. La primera vez que se utiliza el cartucho, invierta suavemente el cartucho 30 veces, evitando la formación de espuma. Compruebe que las micropartículas se resuspenden completamente. Si las micropartículas no se han resuspendido totalmente, siga invirtiendo el cartucho hasta que se produzca la resuspensión. Si las micropartículas no se resuspenden, **NO UTILICE EL CARTUCHO**.



2. Una vez que se hayan resuspendido las micropartículas, coloque el cartucho de reactivos sobre una superficie sólida para retirar la anilla roja. 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.



3. 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. **NO INVIERTA EL CARTUCHO ABIERTO**.



4. Coloque con cuidado el cartucho de reactivos en cualquier ranura abierta del carro 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 y, posteriormente, cada 75 días. El software no permitirá usar un lote si no se cumplen estos requisitos.
2. Consulte el apartado **QUANTA Flash® GBM Calibradores (701141)** 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 GBM 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 **Start F4** para comenzar la sesión de análisis.

Control de calidad

Los controles QUANTA Flash GBM (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701142), contienen los controles positivos y negativos para la GBM. Consulte el apartado **QUANTA Flash® GBM Controles (701142)** 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

En INOVA se produce una curva maestra de seis puntos para cada nuevo lote de QUANTA Flash GBM. 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 equipo para convertir las RLU en CU. La reactividad del anticuerpo frente a la GBM puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

<u>Reactividad</u>	<u>CU</u>
Negativo	<20
Positivo	≥20

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 2,9 CU a 1437,8 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 2,9 CU, el sistema BIO-FLASH indicará "< 2,9 CU". Dado que este valor es inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 1437,8 CU, el sistema BIO-FLASH indicará "> 1437,8 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 1437,8 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 20 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 GBM de INOVA. Los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes pueden no ser intercambiables. La magnitud de los niveles de anticuerpos obtenidos no siempre puede correlacionarse con un título de punto final.”

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con poliangeítis microscópica son positivos para los anticuerpos anti-GBM.
2. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con datos clínicos y otras pruebas serológicas.
3. Si los reactivos no se mezclan correctamente antes del primer uso, pueden obtenerse resultados erróneos.
4. Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para sustratos distintos del suero.

Valores esperados

Para establecer los valores esperados, se han analizado sueros de 400 donantes de sangre aparentemente sanos. La media fue < 3,3 CU y el percentil 95 se calculó como < 5,1 CU. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos de referencia para reflejar la población estudiada.

Trazabilidad

Actualmente no existe ningún estándar internacional reconocido para la determinación de anticuerpos anti-GBM.

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 que se encontraban dentro del rango notificable del ensayo. Dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash GBM y un ELISA destinado al mismo fin.

Comparación de métodos (N = 138)	ELISA GBM			Concordancia (%) (intervalo de confianza: 95%)	
	Positivo	Negativo	Total		
CIA QUANTA Flash® GBM	Positivo	91	2	93	Conc. pos. = 91,0% (83,6-95,8%)
	Negativo	9	36	45	Conc. neg. = 94,7% (92,3-99,4%)
	Total	100	38	138	Conc. total = 92,0% (86,2-96,0%)

Sensibilidad y especificidad clínicas

El estudio de validación clínica contó con 90 muestras de GPS, 50 de artritis reumatoide, 67 de lupus eritematoso sistémico, 50 de enfermedad inflamatoria intestinal no diferenciada, 50 de esclerosis sistémica, 20 de esclerosis múltiple, 10 de enfermedad del tejido conectivo no diferenciada, 10 de colitis ulcerosa, 32 con el virus de la hepatitis B, 58 con el virus de la hepatitis C, 10 con el virus de la inmunodeficiencia humana, 10 de sífilis y 30 con otras enfermedades. Los resultados de este análisis son los siguientes:

Estudio clínico (N = 487)		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		GPS	Sin GPS	Total	
QUANTA Flash® GBM	Positivo	86	1*	87	Sensibilidad = 95,6% (89,0-98,8%)
	Negativo	4	396	400	Especificidad = 99,7% (98,6-100,0%)
	Total	90	397	487	Conc. total = 99,0% (97,6-99,7%)

* Una muestra es de un paciente con VIH.

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash GBM se ha evaluado analizando 12 pacientes según el documento EP5-A2 del CLSI; la tabla siguiente resume los datos obtenidos:

Muestr	N	Media (CU)	Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
			DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV
A	84	15,5	0,5	3,1%	0,5	3,1%	0,3	1,7%	0,7	4,7%
B	80	21,5	1,0	4,8%	1,2	5,4%	0,3	1,6%	1,6	7,4%
C	80	22,0	1,2	5,3%	0,9	4,2%	0,6	2,5%	1,6	7,3%
D	80	22,7	0,7	3,3%	1,1	4,8%	0,6	2,8%	1,5	6,5%
E	84	29,1	1,2	4,1%	0,8	2,9%	0,0	0,0%	1,4	4,9%
F	84	34,0	0,9	2,6%	1,1	3,1%	0,7	2,0%	1,5	4,5%
G	84	31,1	1,1	3,6%	0,6	1,9%	0,5	1,6%	1,4	4,4%
H	84	49,8	1,6	3,3%	1,3	2,6%	0,6	1,3%	2,2	4,4%
I	80	96,9	3,0	3,1%	1,9	1,9%	0,4	0,4%	3,5	3,6%
J	84	401,5	11,2	2,8%	10,9	2,7%	6,4	1,6%	16,9	4,2%
K	84	657,7	20,7	3,1%	17,1	2,6%	14,8	2,3%	30,7	4,7%
L	80	1189,1	113,2	9,5%	90,3	7,6%	27,4	2,3%	147,4	12,4%

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 851 RLU, aproximadamente, lo que equivale a 0,7 CU, muy por debajo del mínimo del rango notificable. El límite superior de detección aproximado es de 620,000 RLU, que está aproximadamente un 38% por encima del máximo del rango notificable. El rango notificable completo, que va de 2,9 CU a 1.437,8 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%)	R ²
1	De 1,7 a 17,6	0,95 (de 0,91 a 1,00)	0,02 (de -0,29 a 0,69)	0,99
2	De 3,5 a 35,1	1,01 (de 0,97 a 1,05)	-0,277 (de -1,14 a 0,59)	0,99
3	De 4,7 a 46,9	0,99 (de 0,95 a 1,04)	-0,202 (de -1,35 a 1,94)	0,99
4	De 10,6 a 97,1	0,98 (de 0,95 a 1,01)	-1,252 (de -2,89 a 0,39)	1,00
5	De 60,9 a 610,5	0,90 (de 0,96 a 1,01)	-0,666 (de -9,89 a 8,56)	1,00
6	De 1,90 a 962,5	1,10 (de 1,06 a 1,13)	3,87 (de -7,73 a 15,47)	1,00

Interferencia

Las muestras que contenían hasta 10 mg/dL de bilirrubina, 200 mg/dL de hemoglobina, 1.000 mg/dL de triglicéridos, 224 mg/dL de colesterol o 500 UI/mL de factor reumatoide IgM no presentaron interferencia en el QUANTA Flash GBM.

Calibradores

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

Los Calibradores QUANTA Flash GBM están destinados a utilizarse con el inmunoensayo quimioluminiscente (CIA) QUANTA Flash GBM en el instrumento BIO-FLASH[®]. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo utilizada en la determinación de autoanticuerpos IgG contra la membrana basal glomerular (GBM) en suero humano.

Resumen y principios del procedimiento

El CIA QUANTA Flash GBM 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 GBM 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 GBM. 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 GBM: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-GBM, prediluido y preparado para ser utilizado, y de 0,7 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).
2. Calibrador 2 del QUANTA Flash GBM: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-GBM, prediluido y preparado para ser utilizado, y de 0,7 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. Los calibradores contienen 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. 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 calibradores QUANTA Flash GBM deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.⁵
4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
5. 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 GBM deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash GBM.
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. Además, cada lote de cartuchos de reactivos debe calibrarse cada 75 días.
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 GBM (vendidos por separado; número de producto: 701142) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

Actualmente no existe ningún estándar internacional reconocido para la determinación de anticuerpos anti-GBM.

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 GBM están destinados al control de calidad del kit de inmunoensayo quimioluminiscente (CIA) QUANTA Flash GBM en un instrumento BIO-FLASH[®] utilizado para la determinación de autoanticuerpos IgG contra la membrana basal glomerular (GBM) en suero humano.

Resumen y principios del procedimiento

Los controles QUANTA Flash GBM están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos anti-GBM. 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. Control negativo QUANTA Flash GBM: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-GBM, preparado para ser utilizado, y de 0,5 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).
2. Control positivo QUANTA Flash GBM: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-GBM, preparado para ser utilizado, y de 0,5 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. Los controles contienen 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. 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 GBM deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.⁵
4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
5. 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 GBM deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash GBM.
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 ½ 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 GBM:

1. Antes de utilizar los controles QUANTA Flash GBM 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 GBM 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 GBM 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 **Choose more options – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo GBM en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en la derecha (“GBMN” para el control negativo o bien “GBMP” 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 GBM de la lista y haga clic en **Add**. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Se recomienda utilizar los controles QUANTA Flash GBM 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 determinación de anticuerpos anti-GBM.

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 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. Pedchenko V, Bondar O, Fogo AB, Vanacore R, Voziyan P, Kitching AR *et al.*: **Molecular architecture of the Goodpasture autoantigen in anti-GBM nephritis.** *N Engl J Med* 2010, **363**: 343-354.
2. Westman KW, Bygren PG, Eilert I, Wiik A, Wieslander J: **Rapid screening assay for anti-GBM antibody and ANCA; an important tool for the differential diagnosis of pulmonary renal syndromes.** *Nephrol Dial Transplant* 1997, **12**: 1863-1868.
3. Mahler M, Radice A, Sinico RA, Damoiseaux J, Seaman A, Buckmelter K *et al.*: **Performance evaluation of a novel chemiluminescence assay for detection of anti-GBM antibodies: an international multicenter study.** *Nephrol Dial Transplant* 2011.
4. Jaskowski TD, Martins TB, Litwin CM, Hill HR: **Comparison of four enzyme immunoassays for the detection of immunoglobulin G antibody against glomerular basement membrane.** *J Clin Lab Anal* 2002, **16**: 143-145.
5. **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 *In Vitro*



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): 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

621140ESP

Septiembre 2012

Revisión 2

