

MAGLUMI[®] Anti-TPO (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de anti-TPO en suero humano con el analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI (entre los que se encuentran Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La peroxidasa tiroidea (TPO, del inglés thyroid peroxidase) o yoduro peroxidasa es una enzima de glucoproteína unida a la membrana, con una masa aproximada de 107 kD, que se expresa principalmente en la tiroides, donde se secreta al coloide. La TPO puede oxidar iones de yoduro a fin de formar átomos de yodo para su incorporación a los residuos de tirosina de la tiroglobulina para la generación de tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), las hormonas tiroideas¹.

Las enfermedades tiroideas autoinmunitarias (AITD, del inglés autoimmune thyroid diseases) incluyen la enfermedad de Graves, tiroiditis linfocítica (tiroiditis de Hashimoto y mixedema primario) y disfunción tiroidea posparto. Son todas enfermedades en las cuales el sistema inmunitario es el principal responsable del proceso de la enfermedad (aunque no necesariamente es el iniciador). Los autoanticuerpos tiroideos contra la peroxidasa tiroidea (TPOAb) y tiroglobulina (TgAb) son una respuesta secundaria a lesiones tiroideas. Ambos son anticuerpos policlonales IgG, y las cantidades presentes se correlacionan con la infiltración linfocítica de la glándula tiroidea, tienen actividad citotóxica de fijación complementaria, y los autoanticuerpos TPO se correlacionan con el daño tiroideo. El hallazgo de TPOAb en el suero indica autoinmunidad tiroidea y, por lo tanto, puede estar asociado con la ocurrencia presente o futura de otras enfermedades autoinmunitarias específicas de un órgano²⁻⁴. Se encuentran valores anti-TPO altos en el 90 % de los pacientes con tiroiditis de Hashimoto crónica. En la enfermedad de Graves, el 70 % de los pacientes tienen una cuantificación elevada⁵. Ya que la AITD suele ocurrir con otras enfermedades autoinmunitarias, como diabetes mellitus insulino dependiente, que supone un mayor riesgo de desarrollar AITD, la presencia de TPOAb es útil para seleccionar qué pacientes necesitan supervisión de su función tiroidea².

Los ensayos de TPOAb son más sensibles para el diagnóstico de la tiroiditis autoinmunitaria que TgAb, pero con un ensayo cuantitativo sensible se encuentran uno o ambos anticuerpos en casi el 100 % de los pacientes. La TPOAb tiene mayor afinidad y suele estar presente en concentraciones más altas que la TgAb. Las concentraciones altas de anticuerpos tiroideos confirman el diagnóstico de enfermedad autoinmunitaria primaria en pacientes en los cuales el cuadro clínico no es claro. En general, cuanto mayor sea la concentración de TPOAb, más grave es el proceso de la enfermedad, ya que se ha implicado a la TPOAb como agente citotóxico en el proceso de destrucción de la tiroides².

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de anti-TPO es un inmunoensayo de quimioluminiscencia sándwich.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el búfer y las microperlas magnéticas recubiertas con antígeno TPO se mezclan completamente y se incuban. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y se realiza un ciclo de lavado. A continuación, se agrega aminobutíleiloluminol (ABEI) marcado con antígeno TPO purificado y se incuba para formar complejos tipo sándwich. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y se realiza otro ciclo de lavado. Posteriormente, se agregan los iniciadores 1 + 2 para iniciar una reacción quimioluminiscente. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, del inglés relative light units), que es proporcional a la concentración de anti-TPO presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF: 130203011M)	50 pruebas (REF: 130603011M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con antígeno TPO, con contenido de albúmina sérica bovina (BSA, del inglés bovine serum albumin), NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Con contenido de BSA y anticuerpo anti-TPO, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Con contenido de BSA y anticuerpo anti-TPO, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Búfer	Con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,0 ml
Marca de ABEI	Antígeno TPO purificado marcado con ABEI, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,0 ml
Diluyente	0,9 % de NaCl.	25,0 ml	15,0 ml
Control de calidad interno	Con contenido de BSA y anticuerpo anti-TPO, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se entregan listos para usarse.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Comprobación de luz	REF.:130299006M
Vaso de reacción	REF: 130105000101

Pida accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método se estandarizó de acuerdo con el estándar de investigación NIBSC 66/387.

La prueba de calibradores específicos de ensayo permite que los valores de RLU ajusten la curva principal asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento por calibración de dos puntos y una curva principal (10 calibraciones) proporcionada a través de un CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, del inglés radio frequency identification) del reactivo.

Se recomienda recalibrar en las siguientes situaciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o iniciador 1 + 2).
- Cada semana o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de que se requiere mantenimiento de los instrumentos.
- Si los controles están fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Siga los reglamentos gubernamentales o los requisitos de acreditación concernientes a la frecuencia de control de calidad.

El control de calidad interno solo es aplicable con el sistema MAGLUMI. Para obtener instrucciones de uso y el valor objetivo, consulte la **Información de control de calidad de anti-TPO (CLIA)**. El usuario debe evaluar los resultados con sus propios estándares y conocimientos.

Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias del cuadro, se necesitan materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras del paciente. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de analito obtenidos se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, según lo determinado por un esquema de control de calidad interna del laboratorio adecuado. Si los resultados del control de calidad no entran dentro de los valores esperados o dentro de los valores establecidos del laboratorio, no informe los resultados. Realice las siguientes acciones:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Verifique que se haya realizado el mantenimiento necesario.
- Verifique que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Vuelva a ejecutar el ensayo con nuevas muestras de control de calidad.
- Si es necesario, comuníquese con sus distribuidores o los ejecutivos de soporte técnico locales para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándar o tubos que contengan gel de separación. Extraiga la sangre asépticamente luego de seguir las precauciones universales para la venopunción.
- Asegúrese de que la formación completa de coágulos en las muestras de suero haya tenido lugar antes de la centrifugación. Algunas muestras, en particular las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, podrían tener un tiempo de coagulación mayor.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se complete la coagulación, la presencia de fibrina puede producir resultados erróneos. Las muestras deben estar libres de fibrina y otras partículas.
- No use muestras hemolizadas o con marcada lipemia, ni tampoco muestras que contengan partículas o exhiban contaminación microbiana evidente. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimínelas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite repetir los ciclos de congelación y descongelación. La muestra de suero solo puede congelarse y descongelarse una vez. Las muestras se deben mezclar completamente después de descongelarse.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben trasladarse a un vaso de muestra o un tubo secundario. Se debe tener cuidado para transferir solo la muestra clarificada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de pacientes y controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI. Consulte el servicio de SNIBE para obtener más detalles sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras retiradas del separador, los glóbulos rojos o el coágulo pueden almacenarse hasta 24 horas a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas del separador de suero, los glóbulos rojos o el coágulo. Al enviarse, las muestras deben embalarse y etiquetarse de conformidad con regulaciones estatales, federales e internacionales que abarquen el transporte de sustancias infecciosas y muestras clínicas. Las muestras deben enviarse congeladas.
- El volumen de muestra necesario para una sola determinación de anti-TPO es de 10 µl.

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para usarse en diagnóstico *in vitro*.
- Siga el prospecto cuidadosamente. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si existe alguna desviación respecto de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras humanas. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y que se manipulen de conformidad con lo dispuesto en 29 CFR 1910.1030 Exposición ocupacional a patógenos transmitidos por la sangre. Se debe usar el nivel de bioseguridad 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para materiales que contienen agentes infecciosos o que se sospecha que los contienen.
- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben considerarse potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben eliminarse de acuerdo con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y en cumplimiento de los requisitos regulatorios imperantes.
- Este producto contiene azida de sodio. Los contenidos y recipientes deben desecharse en conformidad con todas las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a pedido.

Precauciones de manipulación

- No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
- No intercambie los componentes de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit de reactivos se debe mezclar para volver a suspender las microperlas magnéticas que se asentaron durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre cómo mezclar microperlas magnéticas, consulte la sección Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, use guantes limpios cuando trabaje con un kit de reactivos y muestras.
- En el transcurso del tiempo, los líquidos residuales pueden secarse en la superficie septal. Estos son, generalmente, sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para obtener un análisis detallado de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenamiento a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Apertura a entre 2 y 8 °C: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- En el sistema: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- Para asegurar el mejor rendimiento del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador después de la finalización de los trabajos de prueba intradía. Es posible seguir utilizando el kit después del período de apertura o en el sistema si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento y para facilitar la posterior resuspensión adecuada de las microperlas

- magnéticas.
- Se debe mantener alejado de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza de forma automática cuando el kit se carga correctamente, de modo que las microperlas magnéticas se vuelvan a suspender totalmente de forma homogénea antes del uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

Las muestras con concentraciones que estén por encima del rango de medición pueden diluirse.

Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Tras diluir con los analizadores, el software del analizador considera automáticamente la dilución para el cálculo de la concentración de la muestra.

La dilución automática de la muestra está disponible después de que se hayan establecido los ajustes de dilución en el software de usuario del analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI y Biolumi. Consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente..

LIMITACIONES

- Se requiere una manipulación hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables. Las instrucciones de procedimiento deben seguirse exactamente, y es preciso ser cuidadoso para obtener resultados válidos. Cualquier modificación del procedimiento podría alterar los resultados.
- Las muestras de pacientes que están tomando medicamentos o recibiendo tratamientos pueden producir resultados erróneos. Para obtener información adicional, consulte uno de los resúmenes publicados.
- Para ensayos que emplean anticuerpos, existe la posibilidad de interferencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que han estado expuestos regularmente a animales o han recibido inmunoterapia pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA, del inglés human anti-mouse antibodies), lo cual puede ocasionar un falso aumento o una falsa disminución de los valores. Además, otros anticuerpos heterófilos, como anticuerpos humanos anticabra, también podrían estar presentes en las muestras de los pacientes. Puede ser necesaria información clínica o de diagnóstico adicional para determinar el estado del paciente.
- Algunas muestras podrían no diluirse de forma lineal a causa de la heterogeneidad de los autoanticuerpos con respecto a las propiedades fisicoquímicas.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de anti-TPO de cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de dos puntos. Los resultados se expresan en IU/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El rango esperado para el ensayo de anti-TPO se obtuvo mediante la realización de pruebas con 230 personas aparentemente sanas en China, y dio el siguiente valor esperado: < 30 IU/ml (percentil 95).

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en la población y el método de prueba. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos esperados.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo anti-TPO se determina como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probaron dos controles y tres grupos de suero humano con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (IU/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (IU/ml)	% de CV	SD (IU/ml)	% de CV	SD (IU/ml)	% de CV
Grupo de suero 1	18,551	0,974	5,25	0,704	3,80	1,202	6,48
Grupo de suero 2	34,925	1,635	4,68	0,964	2,76	1,898	5,43
Grupo de suero 3	299,743	8,246	2,75	0,844	0,28	8,289	2,77
Control 1	45,170	1,700	3,76	1,336	2,96	2,162	4,79
Control 2	110,661	3,831	3,46	1,406	1,27	4,080	3,69

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de anti-TPO es de 0,38 IU/ml.

Límite de detección (LoD)

El LoD del ensayo de anti-TPO es de 2,0 IU/ml.

Rango de medición

0,38-1000 IU/ml (se define por el límite de blanco y el límite superior de la curva principal). Los valores que están por debajo del límite de blanco se observan como < 0,38 IU/ml. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 1000 IU/ml.

Recuperación de dilución

Dos muestras de suero humano (50 IU/ml y 600 IU/ml) de anti-TPO se diluyeron en serie en la proporción de 1:2, 1:4 y 1:8 con dilución de la muestra y se realizó un ensayo de la recuperación. El resultado se resume en la siguiente tabla:

Muestra	Dilución	Concentración esperada (UI/ml)	Concentración determinada (UI/ml)	% recuperación
S1	inventario	50	-	-
	1:2	25	24,692	98,77
	1:4	12,5	11,950	95,60
	1:8	6,25	6,004	96,07
S2	inventario	600	-	-
	1:2	300	304,100	101,37

	1:4	150	147,000	98,00
	1:8	75	68,950	91,93

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 150 muestras clínicas en el rango de 5,190 a 944,850 IU/ml mediante el ensayo de anti-TPO (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y=0,956x+3,466$, $r^2=0,9584$.

Especificidad

No hay una interferencia significativa con la tiroglobulina (< 300 ng/ml). Se evaluó la especificidad del sistema del ensayo anti-TPO mediante la prueba de muestras con enfermedades autoinmunitarias conocidas y niveles elevados de IgG. Se usaron muestras clínicas con anti-TPO negativo, que contenían reactantes cruzados potenciales, como ANA, AR e hiperglobulinemia (IgG alta), para evaluar la reactividad cruzada del ensayo de anti-TPO. De todos los potenciales reactantes cruzados, no se determinó que ninguno causara falsos positivos en el ensayo de anti-TPO. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Situación	Número de muestras negativas	Número de resultados positivos de anti-TPO
Anticuerpo antinuclear (ANA)	15	0
Artritis reumatoide (AR)	15	0
Hiperglobulinemia (IgG alta)	10	0

Los medicamentos hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Fenilbutazona 15,0 mg/dl
- Salicilato de sodio 50,0 mg/dl
- Aspirina 50,0 mg/dl
- Ibuprofeno 50,0 mg/dl
- Paracetamol 20,0 mg/dl
- Fenitoína 5,0 mg/dl
- Amiodarona 20,0 mg/dl
- Propiltiouracilo 30,0 mg/dl

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 66 mg/dl
- Triglicérido 1500 mg/dl
- Hemoglobina 2100 mg/dl
- Total de proteínas 12 g/dl

REFERENCIAS

1. Ruf J, Carayon P (Jan 2006). "Structural and functional aspects of thyroid peroxidase". Archives of Biochemistry and Biophysics. 445 (2): 269-77.
2. Wild D. The Immunoassay Handbook-the theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques, Fourth Edition. Elsevier Ltd. 2013.
3. Feldt-Rasmussen, U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor. Clin.Chem. 42, 160-163 (1996).
4. Utiger RD. The pathogenesis of autoimmune thyroid disease. N Eng Med 1991;325:278-279.
5. Pfannenstiel P, Hotze LA, Saller B. Schilddrüsen-Krankheiten. Diagnose und Therapie. 3rd completely revised edition; Berliner Med. Verl. Anst., Berlin 1999.

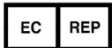


Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel: +86-755-21536601

Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel: +49-40-2513175

Fax: +49-40-255726

EXPLICACIÓN DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener alejado de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote