

MAGLUMI[®] Anti-IA2 (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de anticuerpos de proteínas tipo tirosina fosfatasa (anti-IA2) 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 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 diabetes tipo 1 (DT1) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la destrucción de las células beta pancreáticas dentro de los islotes de Langerhans. En el curso de este proceso autoinmune, se generan autoanticuerpos contra varios antígenos de células beta, por ejemplo, insulina, ácido glutámico descarboxilasa (GAD65, glutamic acid decarboxylase), proteína similar a la tirosina fosfatasa (IA-2) y transportador de zinc 8 (ZnT8, zinc transporter 8)¹. Los autoanticuerpos de proteína tipo tirosina fosfatasa IA-2 (IA-2A) son uno de los cuatro principales autoanticuerpos anti-islotes para el diagnóstico de la DT1. La IA-2 es una proteína transmembranal y un miembro de la familia de proteínas tirosina fosfatasa. Los epítomos autorreactivos predominantes se encuentran en la región C-terminal, y se ha demostrado que las IA-2 solo reaccionan con la parte intracelular de la proteína². Las IA-2A se detectan en, aproximadamente, el 60 % de las personas con una nueva aparición de DT1. Las IA-2A también son los autoanticuerpos con mayor valor predictivo para la inminente aparición de DT1 en individuos de riesgo, una característica que probablemente esté vinculada a su posterior aparición, en comparación con autoanticuerpos anti-insulina y anti-GAD³⁻⁵.

La mayoría de los pacientes desarrollan respuestas inmunes humorales a autoantígenos de células definidas de los islotes, como la insulina, el isoforma 65-kDa de GAD65, ICA69 y dos proteínas de tipo tirosina fosfatasa designadas IA-2 (o ICA512) e IA-2β (o fognrina), de los cuales la IA-2 parece ser dominante⁶⁻⁹. Los anticuerpos IA-2 se detectan en un 60 a 70 % de los pacientes con diabetes tipo 1 y se asocian con la rápida evolución a diabetes en familiares de los pacientes¹⁰. Los anticuerpos IA-2 son más frecuentes en los pacientes con una menor edad de inicio de la enfermedad y en pacientes con alelos HLA-DR4 con susceptibilidad a la diabetes. Los epítomos para anticuerpos IA-2 se encuentran exclusivamente dentro de la región citoplasmática de la molécula y predominan dentro del dominio tipo tirosina fosfatasa, lo que muestra un alto grado de homología en IA-2¹¹⁻¹³.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo anti-IA2 es un inmunoensayo de quimioluminiscencia indirecto.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el búfer y las microperlas magnéticas recubiertas con antígeno de IA2 se mezclan completamente, se incuban y se realiza un ciclo de lavado. Después del lavado, se agrega aminobutílisoluminol (ABEI) marcado con IgG anti-h, y se unen para formar complejos tipo sándwich. Tras otro ciclo de lavado, el resto de los materiales sin unir se eliminan, se agregan los iniciadores 1+2 para iniciar una reacción de quimioluminiscencia rápida. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, relative light units), que es proporcional a la concentración de anti-IA2 presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF: 130205008M)	50 pruebas (REF: 130605008M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con antígeno de IA2 purificado, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Con contenido de BSA y anti-IA2, NaN ₃ (< 0,1 %).	1,5 ml	1,0 ml
Calibrador alto	Con contenido de BSA y anti-IA2, NaN ₃ (< 0,1 %).	1,5 ml	1,0 ml
Búfer	Con contenido de suero bovino, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,0 ml
Marca de ABEI	IgG anti-h marcado con ABEI, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,0 ml
Control 1	Con contenido de anti-IA2 y BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml
Control 2	Con contenido de anti-IA2 y BSA, 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 la sustancia de referencia interna de SNIBE.

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-IA2 (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 siguiendo 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.
- 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 dos veces. 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 información más detallada sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras extraídas del separador, las células o el coágulo pueden almacenarse hasta 5 días a una temperatura de entre 2 y 8 °C, y almacenarse hasta tres meses congeladas a -20 °C o menos.
- 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-IA2 es de 25 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 después de la fecha de caducidad.
- 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.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento, a fin de 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

La dilución de la muestra mediante el analizador no está disponible en este kit de reactivos.

Las muestras con concentraciones que estén por encima del rango de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Elija diluyentes aplicables o pida asesoramiento a SNIBE antes de la dilución manual.

Efecto prozona de dosis alta

En el caso del ensayo de anti-IA2, no se observó un efecto prozona de dosis alta cuando las muestras contenían hasta 16 000 U/ml de anti-IA2.

LIMITACIONES

Se requiere una técnica hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables.

La contaminación bacteriana o la inactivación por calor de las muestras pueden afectar los resultados del examen.

Un resultado dentro del rango esperado no descarta la presencia de la enfermedad y debe interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico.

Los resultados de la prueba se notifican cuantitativamente. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de una sola prueba, sino que debe determinarse en función de los hallazgos clínicos combinados con el criterio médico.

Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.

Las muestras de los pacientes con anticuerpos humanos antirratón (HAMA, del inglés human anti-mouse antibodies) pueden mostrar un falso aumento o una falsa disminución de valores. Aunque se incorporan agentes neutralizantes de HAMA, las concentraciones de HAMA en suero extremadamente altas, en ocasiones, pueden influir en los resultados.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de anti-IA2 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 informan en unidades de U/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El valor esperado para el ensayo de anti-IA2 se obtuvo mediante la realización de pruebas con 256 personas aparentemente sanas en China y dio el siguiente valor esperado:

< 28 U/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 su propio rango de referencia.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de anti-IA2 se determinó como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probaron tres grupos de suero humano y dos controles con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. El resultado se resume en la siguiente tabla:

Muestra	Media (U/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (U/ml)	% de CV	SD (U/ml)	% de CV	SD (U/ml)	% de CV
Grupo de suero 1	13,905	0,982	7,06	0,665	4,78	1,186	8,53
Grupo de suero 2	32,083	1,813	5,65	0,567	1,77	1,900	5,92
Grupo de suero 3	99,629	3,357	3,37	2,149	2,16	3,986	4,00
Control 1	19,950	1,109	5,56	0,180	0,90	1,154	5,78
Control 2	52,141	2,129	4,08	0,660	1,27	2,229	4,27

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de anti-IA2 es de 2,5 U/ml.

Límite de detección (LoD)

El LoD del ensayo de anti-IA2 es de 3,5 U/ml.

Rango de medición

2,5-280 U/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 < 2,5 U/ml. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 280 U/ml.

Linealidad

El ensayo es lineal entre 3,5 U/ml y 280 U/ml, sobre la base de un estudio realizado con la orientación del documento EP6-A del CLSI. Se prepararon nueve niveles de muestras distribuidos uniformemente mediante el enriquecimiento de una muestra de suero que contenía 300 U/ml de anti-IA2 con una muestra de suero libre de anti-IA2 (0,0 U/ml). La media de recuperación de la muestra osciló entre el 90 % y el 110 %.

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 1044 muestras en el rango de 1,255 a 99,890 U/ml mediante el ensayo de anti-IA2 (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y = 0,9827x + 0,2178$; $r^2 = 0,9910$.

Especificidad analítica

La especificidad se obtuvo a través de la adición de estas hormonas a las muestras de suero. La reactividad cruzada del ensayo demostró ser no detectable para GAD65 (< 280 IU/ml) e IAA (< 175 IU/ml).

Interferencia endógena

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

- Bilirrubina 72 mg/dl
- Hemoglobina 2200 mg/dl

- Triglicérido 2000 mg/dl
- ANA +++ (muestra con resultado positivo alto)
- RF 1500 IU/ml
- HAMA 40 ng/ml

REFERENCIAS

1. Kikkas I, Mallone R, Larger E, Volland H, Morel N. A rapid lateral flow immunoassay for the detection of tyrosine phosphatase-like protein IA-2 autoantibodies in human serum. *PLoS One*. 2014; 9: e103088.
2. Lampasona V, Bearzatto M, Genovese S, Bosi E, Ferrari M, et al. (1996) Autoantibodies in insulin-dependent diabetes recognize distinct cytoplasmic domains of the protein tyrosine phosphatase-like IA-2 autoantigen. *J Immunol* 157: 2707–2711. Lampasona V, Bearzatto M, Genovese S, Bosi E, Ferrari M, et al. (1996) Autoantibodies in insulin-dependent diabetes recognize distinct cytoplasmic domains of the protein tyrosine phosphatase-like IA-2 autoantigen. *J Immunol* 157: 2707–2711.
3. Winter WE, Schatz DA (2011) Autoimmune markers in diabetes. *Clin Chem* 57: 168–175.
4. Decochez K, De Leeuw IH, Keymeulen B, Mathieu C, Rottiers R, et al. (2002) IA-2 autoantibodies predict impending type I diabetes in siblings of patients. *Diabetologia* 45: 1658–1666.
5. Achenbach P, Hummel M, Thümer L, Boerschmann H, Höfelmann D, et al. (2013) Characteristics of rapid vs slow progression to type 1 diabetes in multiple islet autoantibody-positive children. *Diabetologia* 56: 1615–1622
6. Rabin DU, Pleasic SM, Shapiro JA, Yo o - Warren H, Oles J, Hicks JM, Goldstein DE, Rae PMM: Islet antigen 512 is a diabetes-specific islet autoantigen related to protein tyrosine phosphatases. *J Immunol* 152:3183–3188, 1994.
7. Payton MA, Hawkes CJ, Christie MR: Relationship of the 37,000- and 40,000- Mr tryptic fragments of islet antigens in insulin-dependent diabetes to the protein tyrosine phosphatase-like molecule IA-2 (ICA512). *J Clin Invest* 96 : 1506-1511,1995.
8. Lu J, Li Q, Xie H, Chen ZJ, Borovitskaya AE, Maclaren NK, Notkins AL, Lan MS: Identification of a second transmembrane protein tyrosine phosphatase, IA-2beta, as an autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus: precursor of the 37-kDa tryptic fragment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:2307–2311, 199.
9. Hatfield ECI, Hawkes CJ, Payton MA, Christie MR: Cross reactivity between IA-2 and phogrin/IA-2 in binding of autoantibodies in IDDM. *Diabetologia* 40:1327–1333, 1997.
10. Bingley PJ, Christie MR, Bonifacio E, Bonfanti R, Shattock M, Fonte MT, Bottazzo GF, Gale E: Combined analysis of autoantibodies improves prediction of IDDM in islet cell antibody-positive relatives. *Diabetes* 43 : 1304-1310,1994.
11. Genovese S, Bonfanti R, Bazzigaluppi E, Lampasona V, Benazzi E, Bosi E, Chiumello G, Bonifacio E: Association of IA-2 autoantibodies with HLA DR4 phenotypes in IDDM. *Diabetologia* 39:1223–1226, 1996.
12. Lampasona V, Bearzatto M, Genovese S, Bosi E, Ferrari M, Bonifacio E: Autoantibodies in insulin-dependent diabetes recognize distinct cytoplasmic domains of the protein tyrosine phosphatase-like IA-2 autoantigen. *J Immunol*157:2707–2711, 1996.
13. Zhang B, Lan MS, Notkins AL: Autoantibodies to IA-2 in IDDM location of major antigenic determinants. *Diabetes* 46:40–43, 1997.

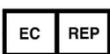


Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

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

Tel: +86-755-21536601

Fax: +86-755-28292740



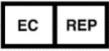
Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

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