

# Inmunoensayo









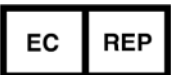
**REF** CMT0101/CMT0102/CMT0103/ CMT0104

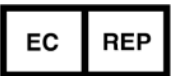

14 pruebas/28 pruebas/28\*2 pruebas/28\*5 pruebas

## TB-IGRA CLIA Micropartículas

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) que utiliza un antígeno específico que representa a los péptidos de *Mycobacterium tuberculosis* para estimular las células en sangre anticoagulante venosa periférica fresca para liberar interferón- $\gamma$  (ensayo de liberación de interferón gamma, IGRA). La detección de interferón- $\gamma$  se utiliza para identificar la reacción inmunológica específica de las células T a los antígenos peptídicos que están asociados con la infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave de los símbolos gráficos utilizados			
	Código de lote		Uso para
	fabricante		Contenido suficiente para <n> pruebas
	dispositivo medico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Límite de temperatura
	Número de catálogo		Consulte intrucciones de uso
	Representante autorizado en la comunidad Europea		

	OBELIS S.A. Bd. Général Wahis, 53 1030 Brussels Belgium
	AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD. No.87 Jingbei Yi Road National Eco & Tech Development Area Zhengzhou China 450016



For any technical assistance please contact us in English at: Email: [customerservice@autobio.com.cn](mailto:customerservice@autobio.com.cn)  
Contact the local dealers for all product related questions in your local language

## Introducción

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica causada por el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Se transmite principalmente a través del aire al sistema de múltiples órganos del cuerpo, especialmente al pulmón que representa varios órganos. También puede afectar órganos como el hígado, los riñones, el cerebro y los ganglios linfáticos. <sup>1</sup> Los pacientes con tuberculosis suelen tener fiebre, sudores nocturnos, fatiga, pérdida de peso, pérdida del apetito y tos con sangre. Un tercio de la población mundial tiene actualmente la infección por *M. tuberculosis*. Y alrededor del 10% de ellos se convertirá en tuberculosis activa. <sup>2</sup>

En los últimos años, se ha desarrollado el ensayo de liberación de interferón gamma (IGRA). El método ELISA y ELISPOT (ELISA o ELISPOT) se adopta para la detección cuantitativa del nivel de IFN- $\gamma$  en sangre total y monocitos de sangre periférica bajo la estimulación específica de antígenos de tuberculosis y fue una ayuda en el diagnóstico de tuberculosis. <sup>3</sup>

## Principio de medición

Este ensayo se basa en el método sándwich de un solo paso. En primer lugar, se añaden el sobrenadante recogido después de la incubación, la solución de micropartículas, el conjugado de anticuerpo IFN- $\gamma$  marcado con enzima. El IFN- $\gamma$  presente en el sobrenadante recogido después de la incubación se deja reaccionar simultáneamente con los dos anticuerpos, por lo que se genera un complejo por reacciones inmunológicas. A continuación, se añade el sustrato quimioluminiscente y este complejo lo cataliza, lo que da como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. Las URL son proporcionales a la concentración de IFN- $\gamma$  en la muestra del paciente.


## Materiales suministrados

### 1. Calibradores

6 viales liofilizados de Calibrador A a F. La matriz es tampón Tris-HCl que contiene una selección de conservantes. Reconstituya cada calibrador liofilizado con 1.0 mL de agua destilada. Luego invierta el calibrador suavemente para mezclarlo completamente.

### 2. Medio de control positivo


El medio de control positivo contiene NaCl.

	14tests	28tests	28*2tests	28*5tests
Medio de control positivo	1.7mL	3.2mL	3.2mL*2	3.2mL*5

Reactivo proporcionado lista para usar.

### 3. Medio de control negativo


El medio de control negativo contiene NaCl.

	14tests	28tests	28*2tests	28*5tests
Medio de control negativo	1.7mL	3.2mL	3.2mL*2	3.2mL*5

Reactivo proporcionado lista para usar.

### 4. Medio de prueba


El medio de prueba contiene NaCl.

	14tests	28tests	28*2tests	28*5tests
Medio de prueba	1.7mL	3.2mL	3.2mL*2	3.2mL*5

Reactivo proporcionado lista para usar.

### 5. Tira de cultivo celular de 3 orificios

Cada uno contiene 3 agujeros.


	14tests	28tests	28*2tests	28*5tests

Tira de cultivo celular de 3 orificios	14	28	28*2	28*5

Placa proporcionada lista para usar.

### 6. Paquete de reactivos

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar.

	14tests	28tests	28*2tests	28*5tests
Solución de micropartículas	1.2mL	2.3mL	2.3mL*2	2.3mL*5
Conjugado de enzimas	3.0mL	5.5mL	5.5mL*2	5.5mL*5

#### ● Solución de micropartículas

Micropartículas monoclonales de ratón recubiertas con anti-IFN- $\gamma$  en tampón PBS (solución salina tamponada con fosfato), contiene una selección de conservantes.

#### ● Conjugado de enzima

Anti-IFN- $\gamma$  monoclonal de ratón marcado con peroxidasa de rábano picante en tampón Tris-HCl, contiene una selección de conservantes.

## Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000 Plus
- AutoLumo A2000 Plus B
- AutoLumo A1000

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en analizadores de ensayo que son AutoLumo A2000 Plus, AutoLumo A2000 Plus B y AutoLumo A1000.

## Materiales requeridos pero no suministrados

1. Analizador de ensayo
2. Vaso (s) de reacción para la reacción de la muestra y el reactivo
3. Tubo (s) de muestra o taza (s) para la muestra que contiene
4. Micropipeta
5. Sustrato quimioluminiscente
6. Lavador del sistema para lavar la aguja de pipeteado
7. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
8. Agua destilada o desionizada
9. Cabina de seguridad biológica
10. Incubadora electrotérmica

## Trazabilidad metrológica de calibradores

El mensurando o analito en los calibradores es trazable a los calibradores de trabajo del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en EN ISO 17511. Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas de este lote de calibrador y son específicos de las metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden ser causadas por sesgos entre métodos.

## Advertencias y precauciones

1. Solo para uso profesional.
2. Siga cuidadosamente las instrucciones de uso. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si hay alguna desviación de las instrucciones de estas instrucciones de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y el etiquetado del producto para conocer los peligros químicos que puedan estar presentes en este ensayo.
4. Manipule los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: Este ensayo contiene materiales de origen animal. No se ha informado encefalopatía bovina (EEB)

- Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel, que debe evitarse al contacto con la piel. Este material y su recipiente deben eliminarse de forma segura. En caso de ingestión, consulte con un médico inmediatamente.
- No fume, beba, coma ni use cosméticos en el área de trabajo.
- Utilice ropa protectora y guantes desechables cuando manipule muestras y reactivos. Lávese las manos después de las operaciones.
- Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipeta desechables.
- Realice el ensayo lejos de las malas condiciones ambientales. p.ej. aire ambiente que contiene gas corrosivo de alta concentración, como ácido hipoclorito de sodio, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Al almacenar los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
- Asegúrese de que las micropartículas se vuelvan a suspender antes de cargarlas en el analizador.
- Evite la formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
- No sustituya ningún reactivo de este kit de otros fabricantes u otros lotes.
- Cuando se observe algún daño en el embalaje protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico, no utilice el kit.
- No utilice reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

## Almacenamiento

- Guarde el kit a 2-8 °C. No congelar. Evite la luz fuerte.
- Refrigere el paquete de reactivo a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
- La fecha de caducidad y la fecha de fabricación se muestran en la etiqueta del envase.
- Almacene el paquete de reactivos sin sellar en posición vertical sobre el analizador o 2-10 °C durante un máximo de 28 días. Después de 28 días, se debe desechar el paquete de reactivos. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-10 °C en posición vertical.
- Los calibradores reconstituídos se pueden utilizar durante 3 días a 2-8 °C. El medio de control negativo, el medio de control positivo y el medio de prueba se pueden utilizar durante 7 días a 2-8 °C. Deben abrirse en la cabina de seguridad biológica y sellarse a tiempo para evitar la contaminación por bacterias. Para un uso más prolongado, todos deben envasarse asépticamente según sea necesario. Congelado a -20 °C, y asegúrese de que los ciclos de congelación-descongelación no sean más de una vez.

## Muestra

- Recolecte muestras de sangre con anticoagulante venoso periférico de acuerdo con las prácticas médicas correctas. Los anticoagulantes heparina de sodio y heparina de litio se han probado y utilizado con este ensayo.
- No utilice muestras inactivadas por calor. No utilice conservantes de azida sódica en las muestras.
- No utilice muestras con contaminación microbiana evidente.
- Un procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
- Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
- La muestra de sangre completa no debe congelarse en un baño de hielo para evitar la muerte celular.
- Agregue la muestra de sangre completa a la placa de cultivo celular que contiene el medio de cultivo en el orden de N, P, T dentro de las 8 horas posteriores a la recolección e incuba a 37 °C. No se puede utilizar la sangre completa durante más de 8 horas.
- Almacene el sobrenadante recolectado después de la incubación a temperatura ambiente por no más de 8 horas; para un uso más prolongado, el sobrenadante debe almacenarse a 2-8 °C hasta 48 horas. O congele las muestras que necesiten ser almacenadas o transportadas por más de 48 horas a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación a más de 2 veces. Mezcle bien las muestras descongeladas con un vórtex a baja velocidad. Inspeccione visualmente

las muestras, si se observa sedimento, se eliminará por centrifugación. Después de descongelar, lleve a temperatura ambiente y mezcle bien agitando suavemente.

- Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras en busca de sobrenadante. Elimine las burbujas con una punta antes del análisis. Utilice una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

## Antes de usar

- Recolección: Use un tubo de extracción de sangre al vacío con anticoagulante aséptico de heparina sódica o heparina litio para recolectar muestras de sangre total mediante punción intravenosa, la cantidad de muestras de sangre total no es inferior a 4 ml.
- Dispensación de medio: Añada 100 µL de medio de control negativo (N), 100 µL de medio de control positivo (P) y 100 µL de medio de prueba (T) respectivamente al orificio correspondiente de la tira de cultivo de 3 orificios en la cabina de seguridad biológica.
- Dispensación de sangre total: Invierta suavemente el tubo de sangre total de 3 a 5 veces después de la recolección. Dispense 1,0 ml de muestra de sangre total, respectivamente, en el orificio correspondiente de la tira de cultivo de 3 orificios en un plazo de 8 horas en la cabina biológica de seguridad.
- Incubación: Tape la tira de cultivo de 3 orificios, luego colóquela en la incubadora electrotérmica a 37 °C durante 16-24 horas. La tira de cultivo de 3 orificios debe estar en posición vertical durante la incubación.
- Recolección del sobrenadante después de la incubación: Mantenga la tira de cultivo de 3 orificios en la mesa plana durante 1 minuto después de la incubación. Luego abra la tapa, drene el sobrenadante de cada orificio de la placa de cultivo celular para la detección de IFN-γ. Evite el sobrenadante debajo de la capa celular de hemólisis.

## Procedimiento de medición

### 1. Verifique los materiales consumibles

- Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de ejecutar la prueba.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

### 2. Cargue el kit

- Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evite la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
- Lea el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

### 3. Solicitar pruebas

- Coloque el (los) tubo (s) de muestra o taza (s) en el portamuestras. 100µL de sobrenadante de muestra para cada prueba. Pero considere el recipiente de muestra y 150 µL de volúmenes muertos del sistema, que se pueden consultar en los manuales del analizador de ensayo correspondientes para conocer el volumen mínimo de muestra requerido.
- Cargue el portamuestras e introduzca la información de la muestra en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador opera automáticamente las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
  - Mueve la muestra al punto de ajuste
  - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso

- Aspira y transfiere el sobrenadante de la muestra al recipiente de reacción
- Agrega la solución de micropartículas y el conjugado enzimático al recipiente de reacción
- Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
- Agrega sustrato quimioluminiscente
- Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de IFN- $\gamma$  en la muestra
- Desecha el recipiente de reacción usado
- Calcula el resultado
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

#### 4. Calibre la curva

- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Transfiera los calibradores a los tubos o tazas de muestra y colóquelos en el portamuestras. Realice la detección de duplicados en el sistema.
- Cargue el portamuestras y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración, se requiere calibración cada 28 días.
- Una vez que se acepta y se almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
  - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
  - Se utiliza un kit de reactivos y un sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote
  - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
  - Se reemplazan o reparan piezas importantes del analizador
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

### Resultados de medición

El software del sistema determina automáticamente los resultados de la prueba de muestra. La cantidad de IFN- $\gamma$  en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida mediante los datos de calibración almacenados. Los resultados de las pruebas de muestra se pueden revisar utilizando la pantalla adecuada. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos sobre cómo revisar los resultados de las muestras. La unidad predeterminada para este ensayo es UI / mL.

La siguiente tabla muestra la interpretación de los resultados:

N (IU/mL)	T menos N (IU/mL)	P menos N (IU/mL)	Resultado	Interpretación
$\leq 10.0$	$<0.438$	$\geq 0.625$	Negativo	Es posible que la tuberculosis no infecte a las células T.
	$\geq 0.438$ y $<25\% N$	$\geq 0.625$		
$\leq 10.0$	$\geq 0.438$ y $\geq 25\% N$	Ninguno	Positivo	La tuberculosis puede infectar a las células T.
	$<0.438$	$<0.625$	Indeterminado	No se puede determinar la probabilidad de que la tuberculosis infecte a las células T.
$\geq 0.438$ and $<25\% N$	$<0.625$			
$> 10.0$	Ninguno	Ninguno		

Nota: N: valor de prueba del orificio de cultivo de control negativo; P: valor de prueba del orificio de cultivo de control positivo, T: valor de prueba del orificio de cultivo de prueba.

### Procedimiento de control

Los controles para los distintos rangos de concentración deben ejecutarse individualmente cuando la prueba esté en uso, una vez por kit de reactivos y después de cada calibración.

Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los valores obtenidos deben estar dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctivas a tomar si los valores caen fuera de los límites definidos.

Siga las normativas gubernamentales aplicables y las directrices locales para el control de calidad.

### Limitaciones del procedimiento

1. Este ensayo está destinado a ayudar al diagnóstico clínico. Realice este ensayo junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados de la prueba.
2. Los resultados negativos no pueden descartar completamente la posibilidad de tuberculosis. Si los resultados no concuerdan con la evidencia clínica, se sugiere realizar pruebas adicionales para confirmar el resultado.
3. Los anticuerpos heterofílicos y los factores reumatoides en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas reactivas, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y pueden observarse valores anómalos. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
4. Debido a la secreción pulsátil, las muestras obtenidas el mismo día del mismo paciente pueden fluctuar ampliamente dentro del intervalo de referencia, reflejando variaciones fisiológicas más que errores en la técnica o metodología.
5. No se deben utilizar muestras de lipemia, hemólisis o turbidez, ya que no se ha validado la precisión de los resultados de las pruebas.
6. Pacientes con función inmunológica deteriorada o sometidos a terapia inmunosupresora, como pacientes con VIH o pacientes sometidos a inmunosupresión después de un trasplante de órganos. El valor de referencia de las pruebas de antígenos es limitado y puede dar lugar a explicaciones médicas erróneas.
7. La manipulación inadecuada de muestras de sangre entera, como la manipulación violenta, sangre entera durante más de 8 horas, da como resultado daño a las células o hemólisis. Puede producirse un resultado anormal de la prueba.
8. Debido a la limitación de la metodología o la especificidad inmunológica y otras razones, los resultados de las pruebas de reactivos de diferentes fabricantes para la misma muestra pueden ser diferentes, por lo que dichos resultados no deben compararse directamente entre sí, a fin de evitar una explicación médica incorrecta. Se recomienda indicar las características de los reactivos de los diferentes fabricantes cuando se comuniquen al médico.

### Características de rendimiento

#### 1. Precisión de medición

Se ensayaron 2 controles internos (Q1 y Q2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Controles internos	Lote	n	Media	Precisión intra-corrída	
				SD	%CV
Q1	1	10	0.53	0.02	3.77
Q2	1	10	2.30	0.10	4.35

Se analizaron 2 controles internos (Q1 y Q2), utilizando 1 lote de reactivos, en repeticiones de 10, una vez al día durante 3 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Control	Lote	n	Media	Precisión entre corridas
---------	------	---	-------	--------------------------

Interno				SD	%CV
Q1	1	30	0.53	0.01	1.89
Q2	1	30	2.34	0.09	3.85

## 2. Límite de blanco

Límite de blanco: 0.02IU/mL.

## 3. Especificidad analítica

Reacción cruzada: este ensayo se evaluó para determinar la posible reactividad cruzada de muestras de personas con afecciones médicas no relacionadas con la infección por tuberculosis. Las sustancias con una concentración de 40 ng / mL, como la interleucina-1a humana (IL-1a), la interleucina-1b humana (IL-1b), la interleucina-1RA humana (IL-1RA), la interleucina-3 humana (IL-3), Interleucina-5 humana (IL-5), interleucina-8 humana (1-72) - (IL-8 1-72), interleucina-8 humana (1-77) (IL-8 1-77), La interleucina-12 (IL-12), el interferón alfa humano (IFN- $\alpha$ ), el interferón beta humano (IFN- $\beta$ ) no presentan reacción cruzada con la prueba. Interferencia: este ensayo está diseñado para tener una interferencia aceptable con las sustancias enumeradas a continuación, en los niveles de concentración enumerados.

<u>Interferente</u>	<u>Concentración</u>
Bilirrubina	40 mg/dL
Triglicéridos	3000 mg/dL
Hemoglobina	125 mg/dL

## 4. Efecto GANCHO de dosis alta

Se determinó una muestra enriquecida con IFN- $\gamma$  hasta 200 UI / mL, el resultado de concentración obtenido no fue una clasificación errónea de la muestra.

## Literatura de Referencia

1. Pai M, Jr R L J. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review[J]. Lancet Infectious Diseases, 2004, 4(12):761-776.
2. Tsiouris S J, Coetzee D, Toro P L, et al. Sensitivity Analysis and Potential Uses of a Novel Gamma Interferon Release Assay for Diagnosis of Tuberculosis[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2006, 44(8):2844-2850.
3. Sharma S K, Vashishtha R, Chauhan L S, et al. Comparison of TST and IGRA in Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in a High TB-Burden Setting:[J]. Plos One, 2017, 12(1):e0169539.