



A x i s - S h i e l d

Anti-PCC

IVD



REF FCCP600

Sólo para uso profesional



Axis-Shield Diagnostics Limited

The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, Reino Unido

Tel: +44 (0) 1382 422000, Fax: +44 (0) 1382 422088.

Correo electrónico: www.axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com

La prueba anti-PCC de Axis-Shield es un análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) semicuantitativo/cualitativo para la detección de la clase IgG de los anticuerpos específicos del péptido citrulinado cíclico (PCC) en el suero (incluido el tubo separador de suero) o plasma (EDTA, heparina de litio o citrato de sodio) humanos. La detección de los anticuerpos anti-PCC se utiliza para ayudar en el diagnóstico de la artritis reumatoide (AR), y debe utilizarse juntamente con otra información clínica. Los niveles de autoanticuerpos representan un parámetro en un proceso diagnóstico con múltiples criterios, que engloba evaluaciones tanto clínicas como analíticas. Sólo para uso en diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmunitaria sistémica frecuente que afecta entre el 0,5% y el 1,0% de la población adulta. La AR se caracteriza por la inflamación crónica del sinovio, que puede desembocar en la destrucción progresiva de la articulación y, en muchos casos, provocar la discapacidad y la reducción de la calidad de vida.¹ Por lo general, se acepta que la intervención precoz resulta fundamental en la prevención del daño articular irreversible y, para ello, resulta importante diagnosticar la AR en la fase más temprana posible dentro de la evolución de la enfermedad.^{2,3} El diagnóstico de la AR se basa principalmente en características clínicas, radiológicas e inmunológicas. La prueba serológica más frecuente es la medición del factor reumatoide (FR).⁴ Aunque la prueba del FR tiene una buena sensibilidad, no es específica para la AR, ya que está presente a menudo en personas sanas y en pacientes con otras enfermedades reumáticas o inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias o infecciones crónicas.⁵

Durante varios años, se ha reconocido que los anticuerpos del factor antiperinuclear (APF) y de la keratina (AKA) son altamente específicos para la AR. Posteriormente, se ha informado que estos dos anticuerpos reaccionan con la filagrina nativa y ahora son conocidos como anticuerpos antifilagrina (AFA).^{6,7,8} Algunos datos recientes han demostrado que estos anticuerpos están dirigidos a los epítomos que contienen citrulina.⁹ La citrulina es un aminoácido poco común, ya que no se incorpora a las proteínas durante la síntesis proteica. No obstante, puede generarse mediante modificación postransicional de los residuos de arginina por parte de la enzima peptidilarginina deiminasa (PAD).¹⁰ En 1998, Schellekens y cols. informaron que los anticuerpos reactivos con los péptidos sintéticos lineales que contenían citrulina eran altamente específicos para la AR en un ensayo basado en ELISA.¹¹ En estudios posteriores se ha demostrado que las variantes cíclicas de estos péptidos lineales, llamados péptidos citrulinados cíclicos (PCC) eran igual de específicos para la AR, pero con una sensibilidad mayor que los péptidos lineales.¹² En un esfuerzo para mejorar aún más la sensibilidad de PCC, se hizo el cribaje de un banco dedicado de péptidos con citrulina con sueros de AR y se descubrió un conjunto nuevo de péptidos (PCC2) que aportó un rendimiento superior en comparación con la prueba PCC1.¹³ En los últimos años, muchos informes publicados han confirmado el rendimiento diagnóstico del análisis PCC2.¹⁴ Se ha observado que los anticuerpos anti-PCC, que a menudo se los conoce también como anticuerpos anti-proteínas/péptidos citrulinados (ACPA), están presentes en fases muy tempranas de la enfermedad, con frecuencia en ausencia de síntomas clínicos y muchos informes indican que las concentraciones elevadas de anticuerpos anti-PCC pueden prever el desarrollo de enfermedad erosiva.^{15,16,17,18,19,20} Estos resultados sugieren una función importante para los péptidos citrulinados cíclicos en el diagnóstico de la AR en una fase temprana de la evolución de la enfermedad.







En 2010 se publicaron los *Criterios de Clasificación de la Artritis Reumatoide de ACR/EULAR*, que sustituyeron los criterios "antiguos" de ACR de 1987, que muchos consideraban que no eran adecuados para el diagnóstico precoz de la AR. Estos criterios de clasificación revisados, publicados conjuntamente por el Colegio Americano de Reumatología (ACR) y por la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR), recomiendan un sistema de puntuación de entre 0 y 10. Los nuevos criterios de clasificación se deben aplicar a las personas que presenten sinovitis definitiva (artritis inflamatoria indiferenciada). Los cuatro criterios adicionales fueron el número de articulaciones afectadas, presencia de anomalías serológicas, respuesta en la fase aguda y duración de los síntomas en las articulaciones afectadas. Por primera vez, los criterios serológicos incluyeron la medición de las ACPA, como los anti-PCC, así como una definición de un resultado serológico positivo bajo y positivo alto.²¹

El ensayo anti-PCC de Axis-Shield es un ELISA basado en la detección de autoanticuerpos en el suero o plasma humanos hacia un péptido cíclico sintético que contiene residuos de arginina modificados (péptidos PCC2). El análisis proporciona un instrumento adicional para el diagnóstico de los pacientes con AR.

PRINCIPIOS DEL ANÁLISIS

Los pocillos de las tiras de microtitulación están recubiertos con un péptido citrulinado cíclico sintético altamente purificado que contiene residuos de arginina modificada. Durante la primera incubación, anticuerpos específicos en el suero o plasma diluidos se unen a la superficie recubierta con el antígeno. Entonces, se lavan los pocillos para eliminar los componentes no unidos. En una segunda incubación, el conjugado, un anticuerpo policlonal marcado con enzimas a la IgG humana, se une a cualquier autoanticuerpo unido a la superficie. Después de volver a lavar, se trazan los autoanticuerpos específicos mediante incubación con el sustrato. Se añade la solución de parada para detener la reacción, lo que produce un producto final de color, y se determina la cantidad de conjugado unido en unidades de absorbancia. En el protocolo cualitativo, la cantidad de conjugado unido por la muestra se compara con aquel unido por el control de referencia. En el protocolo semicuantitativo, se puede estimar la concentración de autoanticuerpo anti-PCC mediante interpolación de una curva dosis-respuesta basada en calibradores.

COMPONENTES DEL KIT

CONJ	1 x 15,0 ml	Anticuerpo policlonal de cabra marcado con peroxidasa de rábano a la IgG humana, ácido p-hidroxifenilacético al 0,1% (p/v), Proclina al 0,15% (p/v) y estabilizador de proteína (bovina) al 1% (p/v) en un tampón de HEPES. Listo para usar. Nota: ADVERTENCIA	
SUBS	1 x 15,0 ml	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina, solución amortiguadora. Listo para usar No exponer a la luz durante el almacenamiento. Nota: ADVERTENCIA	 
SOLN STOP	1 x 15,0 ml	Ácido sulfúrico 0,25 mol/l, solución acuosa. Listo para usar. Nota: PELIGRO	
BUF WASH 10 X	3 x 25,0 ml	Tampón fosfato salino, 1,3% (v/v), Tween 20 Diluir antes de usar.	
MTP 8 x 12	8 x 12 tiras con pocillos de microtitulación (separables)	Recubiertos con péptido citrulinado cíclico sintético, en un envase de papel de aluminio resellable con desecante.	
SAMPLE DIL 5 X	1 x 25,0 ml	Tampón fosfato, estabilizador de proteína (bovina), 0,5% (p/v), azida sódica. Diluir antes de usar. Nota: PELIGRO	 
CAL 1	1 x 1,0 ml	Tampón fosfato, estabilizador de proteína (bovina), <0,1% (p/v), azida sódica. 0 U/ml. Listo para usar	
CAL 2 - CAL 6	5 x 1,0 ml	Plasma humano, tampón fosfato, estabilizador de proteína (bovina), <0,1% (p/v) azida sódica. 2, 8, 30, 100, 300 U/ml. Listo para usar	
CONTROL REF	1 x 1,5 ml	Plasma humano, tampón, <0,1% (p/v), azida sódica. Listo para usar	
CONTROL +	1 x 0,3 ml	Plasma humano, tampón, <0,1% (p/v), azida sódica. Diluir 1:100 con diluyente de muestra diluido antes del uso, como con las muestras.	
CONTROL -	1 x 0,3 ml		

ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

Estabilidad del kit una vez abierto

Se abrió y reutilizó un kit en tres ocasiones durante un periodo de tres meses sin ningún efecto adverso sobre su rendimiento. Después de su uso, los componentes deben conservarse de nuevo a una temperatura de 2-8°C.

Notas sobre la manipulación y el procedimiento

1. Guardar los componentes del kit a una temperatura entre 2°C y 8°C y utilizarlos hasta la fecha de caducidad que aparece en las etiquetas. No utilizar reactivos caducados.
2. No mezclar números de lote diferentes.
3. No congelar los kits.
4. El concentrado de tampón de lavado, el concentrado de diluyente de muestra y los controles positivos y negativos deben diluirse antes de su uso. Todos los demás reactivos están listos para usar.
5. Asegurarse que se evita la contaminación microbiana del tampón de lavado diluido y del diluyente de muestra diluido y volver a guardarlos a una temperatura de entre 2°C y 8°C después del análisis.
6. Volver a colocar las tiras de microtitulación sobrantes (sin utilizar) en el envase de papel de aluminio con el desecante. Asegurarse de que el sellado es integral y volver a guardarlas a una temperatura de entre 2°C y 8°C, hasta que sea necesario.
7. No exponer el sustrato a la luz durante el almacenamiento.
8. Evitar la contaminación de los reactivos. Utilizar una punta de pipeta desechable nueva para cada manipulación de reactivos o muestras.

Indicios de deterioración

El sustrato debe ser entre incoloro y de un color azul muy pálido. La turbidez o precipitación de cualquier componente indica deterioro, por lo que se deberá desechar el componente.

Si hay cristales visibles en el diluyente de lavado o de la muestra al sacarlo del almacenaje en frío, éstos se disolverán con la inversión y al volver a temperatura ambiente.

Recogida y conservación de muestras


El análisis está recomendado para muestras de suero (incluido tubo separador de suero [TSS]) o plasma (EDTA, heparina de litio o citrato de sodio) humanos. No se han analizado otros tipos de tubos para su uso en este análisis. No utilizar muestras fuertemente hemolizadas o turbidas Mezclar completamente las muestras descongeladas antes del análisis y evitar repetir el ciclo de congelado/descongelado. No inactivar las muestras por calor, podría dar resultados falsos positivos.

Para la preparación para el análisis, seguir las instrucciones del fabricante del tubo para los tubos de recogida. Las muestras pueden conservarse sin diluir a una temperatura de entre 2°C y 8°C durante cuatro semanas; para un almacenamiento más prolongado deben conservarse a una temperatura de -20°C o inferior. Las muestras diluidas a 1:100 en diluyente de muestra diluido deben utilizarse en el plazo de 24 horas desde la dilución.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES






Sólo para uso en diagnóstico *in vitro*

Precauciones de seguridad

1. Seguir estrictamente las instrucciones de este folleto, especialmente en cuanto a las condiciones de manipulación y almacenamiento.
2.  Los calibradores y controles contienen plasma humano analizado con ensayos aprobados por la FD para HBsAg, ARN de VIH-1 o Ag de VIH-1, anti-VIH-1/VIH-2 y anti-VHC o ARN de VHC, que resultaron no reactivo/negativo. Como no hay ninguna prueba que ofrezca la seguridad total de la ausencia de agentes infecciosos, los calibradores y los controles deberán considerarse potencialmente infecciosos y manipularse con las mismas precauciones que cualquier otro material potencialmente biopeligroso. Las pautas "Protección de los trabajadores de laboratorio de infecciones adquiridas en el trabajo" (M29-A3 - Tercera edición),²² aprobadas por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) describen cómo deben manipularse estos materiales de conformidad con la Buena Práctica Clínica.
3. No pipetear con la boca.
4. No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos en las zonas donde se manipulan kits y muestras.
5. Se deben proteger debidamente todos los problemas cutáneos, cortes, abrasiones y otras lesiones cutáneas.
6. Los calibradores, controles y concentrado de diluyente de muestra contienen azida sódica que puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías, formando azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los residuos, usar abundante agua para evitar la formación de estas azidas.

7. Las hojas de datos de seguridad de los materiales de todos los componentes peligrosos que contiene este kit están disponibles bajo petición a Axis-Shield Diagnostics.

Precaución: Las leyes federales restringen la venta de este dispositivo a médicos o por orden facultativa.

 <p>Advertencia Conjugado</p>	<p><u>Advertencia</u> H317 –</p> <p><u>Prevención</u> P272 – P280 – P363 –</p>	<p>Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.</p>
 <p>Advertencia Sustrato</p>	<p><u>Advertencia</u> H302 – H312 – H315 – H319 – H332 – H335 –</p> <p><u>Prevención</u> P260 – P280 –</p> <p><u>Respuesta</u> P301+310 – P304+340 – P305+351+338 –</p>	<p>Nocivo en caso de ingestión. Nocivo en contacto con la piel. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Nocivo en caso de inhalación. Puede irritar las vías respiratorias.</p> <p>No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando</p>
  <p>Peligro Diluyente de muestra</p>	<p><u>Advertencia</u> H302 – H318 – H412 – EUH032 –</p> <p><u>Prevención</u> P264 – P280 –</p> <p><u>Respuesta</u> P301+310 – P305+351+338 – P330 –</p>	<p>Nocivo en caso de ingestión. Provoca lesiones oculares graves. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando Enjuagarse la boca.</p>
 <p>Peligro Solución de parada</p>	<p><u>Advertencia</u> H314 –</p> <p><u>Prevención</u> P260 – P273 – P280 –</p> <p><u>Respuesta</u> P301+330+331 – P303+361+353 – P304+340 – P305+351+338 –</p>	<p>Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.</p> <p>No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Evitar su liberación al medio ambiente Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.</p>

PREPARACIÓN

Materiales/Equipo necesarios pero no incluidos en el kit

1. Lector de placa/tira de 96 pocillos con filtro de 450 nm.
2. Pipetas de precisión para dispensar 10 µl, 100 µl, 1 ml. Pipeta automática para dispensar 100 µl. Pipeta automática para dispensar 300 µl para lavado manual; lavador automático de placas opcional.
3. Cilindros de medición de vidrio/plástico: 1x100 ml, 1x500 ml.
4. Contenedores de 1 ml de volumen.
5. Agua destilada/desionizada.
6. Toallas de papel.
7. Temporizador para intervalos de 30 y 60 minutos.

Preparación para el análisis

Dejar que todos los componentes del kit, incluidas las tiras de microtitulación, se calienten hasta entre 18°C y 25°C durante 30-60 minutos antes de su uso. Mezclar los reactivos invirtiéndolos suavemente.

No diluya el control de referencia.

Diluir los siguientes reactivos y mezclarlos completamente.

Reactivo	Volumen	Añadir
Concentrado de tampón de lavado	1 vial	225 ml agua destilada/desionizada
Concentrado de diluyente de muestra	1 vial	100 ml agua destilada/desionizada
Controles positivos y negativos/muestras	10 µl	1 ml de diluyente de muestra diluido

Calcular el número de tiras de microtitulación que necesita para el ensayo y conservar las demás en el soporte para tiras de microtitulación. Devolver las tiras sobrantes al envase de papel de aluminio resellable con el desecante y conservarlas a entre 2°C y 8°C, hasta que sea necesario. Asegurarse de que todas las tiras quedan bien fijadas dentro del soporte para tiras de microtitulación. Los usuarios pueden numerar cada tira en la extremo superior para ayudar la identificación. Conservar el soporte para tiras de microtitulación para utilizarlo más veces.

PROTOCOLO DEL ANÁLISIS

Protocolo cualitativo: control de referencia, controles positivos y negativos y muestras del análisis.

Protocolo semicuantitativo: calibradores (1-6), controles positivos y negativos y muestras del análisis.

1. Establecer referencias en los pocillos para su identificación.
2. Pipetear por duplicado 100 µl de control de referencia/calibradores y controles positivos y negativos prediluidos (1:100) en los pocillos pertinentes. Pipetear una sola vez o por duplicado 100 µl de las muestras de pacientes prediluidas (1:100) en los pocillos pertinentes. Se recomienda analizar las muestras por duplicado, aunque esto es opcional según la normativa de laboratorios local. Este paso no debería superar los **10 minutos** para cada uno de los conjuntos de calibradores/controles/muestras.
3. Incubar durante 60 ± 10 minutos a 18°C-25°C.
4. Decantar el contenido de la tira mediante inversión rápida sobre una pila adecuada para desechar materiales biológicos, teniendo en cuenta el potencial peligro infeccioso de las muestras. Secar las tiras invertidas bien con toallas de papel.
5. Lavar los pocillos **cuatro veces** con un mínimo de 300 µl de tampón de lavado diluido. **Decantar y secar después de cada paso de lavado.**
6. Añadir 100 µl de conjugado a cada pocillo.
7. Incubar durante 30 ± 5 minutos a 18°C-25°C.
8. Repetir los pasos 4 y 5.
9. Añadir 100 µl de sustrato a cada pocillo.
10. Incubar durante 30 ± 5 minutos a 18°C-25°C. **No decantar.**
11. Añadir 100 µl de solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden y velocidad que la adición del sustrato. Golpear suavemente los pocillos para mezclar y asegurarse de que no hay burbujas visibles.
12. Leer las tiras a 450 nm.
13. Leer la prueba en el plazo de 60 minutos después de realizar el análisis.

CÁLCULO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Al calcular e interpretar los resultados se debe tener en cuenta cada prueba por separado.

Protocolo cualitativo

Calcular la proporción del valor de absorbancia medio (densidad óptica) para los controles positivos y negativos y para cada muestra (media) hasta el valor de absorbancia del control de referencia:

$$\text{Proporción de absorbancia} = \frac{\text{Valor de absorbancia medio de control}}{\text{Valor de absorbancia de control de referencia medio}}$$

$$\text{Proporción de absorbancia} = \frac{\text{Valor de absorbancia medio de muestra}}{\text{Valor de absorbancia de control de referencia medio}}$$

Los usuarios deben calcular un límite entre las muestras positivas y las negativas que sea específico para sus poblaciones de pacientes. Los resultados de las poblaciones de pacientes utilizadas en el ensayo clínico de Axis-Shield sugieren el siguiente límite:

<u>Proporción de absorbancia</u>	<u>Interpretación del resultado</u>
< 0,95	Negativo
≥ 0,95 a ≤ 1,0	Limítrofe - se recomienda repetir la prueba
> 1,0	Positivo

Protocolo semicuantitativo

Trazar el valor de absorbancia medio de cada calibrador en comparación con la concentración del calibrador \log_{10} (ver la tabla siguiente) sobre el papel de gráfico pertinente. Entonces se pueden leer las concentraciones medias de los controles positivos y negativos y las muestras (medias) a partir de la curva de calibración; a continuación se muestra un trazado de la curva de calibración típica como referencia, no se debe utilizar para interpretar los resultados. Resultan satisfactorios los ajustes de curvas de logística de 4 parámetros y spline cúbico. No se recomienda el uso de otros modelos de ajuste de curvas.

Las muestras con absorbancias por encima del calibrador 6 (300 U/ml) están fuera del intervalo del análisis y deberán señalarse como > 300 U/ml, diluido y nuevamente analizado, con corrección de este otro factor de dilución.

Para la interpretación de los resultados semicuantitativos y basándose en los datos de la población de referencia* de Axis-Shield, se sugiere:

<u>Resultado de muestra (media)</u>	<u>Interpretación del resultado</u>
≤ 5 U/ml	Negativo
> 5 U/ml	Positivo

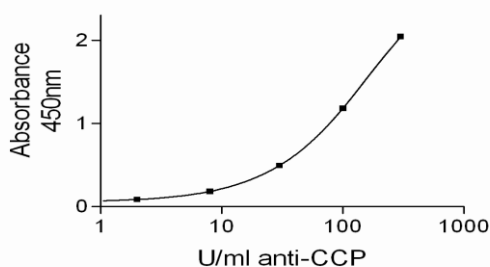
*Sólo es una sugerencia de orientación. Se recomienda que los usuarios establezcan un intervalo de referencia, que puede ser exclusivo de la población.

Nota: Como en todos los análisis que miden anticuerpos, este análisis determina la actividad del anticuerpo presente en la muestra, y no la concentración. La actividad puede verse afectada por cierto número de parámetros, por ejemplo, la avidéz de los anticuerpos.

Concentraciones del calibrador

Número de calibrador	Concentración U/ml
1	0
2	2
3	8
4	30
5	100
6	300

Curva de calibración típica



CONTROL DE CALIDAD

Comprobar que se lleva a cabo un mantenimiento y una calibración de lector de placa apropiados de acuerdo con las instrucciones del fabricante y que se utiliza la longitud de onda correcta.

Los usuarios deben garantizar que están totalmente familiarizados con las instrucciones para la realización del análisis, especialmente la sección de Advertencias y Precauciones y las Notas sobre Manipulación y Procedimientos. Antes de notificar los resultados de la prueba del paciente, los usuarios deberían demostrar que pueden obtener unas especificaciones de funcionamiento de precisión e intervalo notificable de los resultados de la prueba comparables con las establecidas por el fabricante. Se recomienda que los Controles Positivos y Negativos prediluidos se realicen por duplicado en todos los ensayos para vigilar la calidad del procedimiento de la prueba. Realizar el control de referencia listo para su uso por duplicado en todos los análisis cualitativos.

Dando por sentado que se consiguen las especificaciones de precisión descritas por el fabricante, el hecho que un control no cumpla las especificaciones de la proporción de control que aparecen a continuación invalida el análisis y no se deben comunicar los resultados del paciente. El operario puede repetir el análisis, tras haber revisado el procedimiento, o ponerse en contacto con el distribuidor/fabricante. Para repetir el análisis, preparar una dilución nueva de cada control y muestra. Los laboratorios pueden querer incluir controles internos en cada realización del análisis. Almacene este material de control a una temperatura de -20°C o inferior y evite los ciclos repetidos de congelación/descongelación. Los conservantes, como p. ej. la azida sódica al 0,1% (w/v), no afectarán a los resultados de las muestras.

Los niveles de analitos identificados en determinadas enfermedades son los establecidos por el fabricante para poblaciones específicas y no reflejan necesariamente la literatura. Los usuarios deben calcular los niveles de incidencia, su relación con enfermedades específicas, los intervalos de referencia y los valores límite apropiados para las poblaciones específicas atendidas.

Especificaciones de Tasa de Control

Protocolo	Especificaciones
Cualitativo (proporciones)	$\frac{\text{Absorbancia de control positivo}}{\text{Absorbancia de control de referencia}} \geq 1,1$
	$\frac{\text{Absorbancia de control negativo}}{\text{Absorbancia de control de referencia}} < 0,95$
Semicuantitativo	Véase etiqueta de Control Positivo para el rango previsto aceptable (U/ml)
	Concentración del Control Negativo < 2 U/ml

VALORES PREVISTOS

Se analizaron 200 muestras de suero de donantes asintomáticos, aparentemente sanos, con edades comprendidas entre 18 y 72 años y con una representación similar de hombres [n=105] y mujeres [n=95], con la prueba anti-PCC de Axis-Shield (FCCP200).

No se observaron diferencias atribuibles al sexo ni a la edad (cálculos realizados comparando edades de ≤ 40 años [n=115] y > 40 años [n=85]).

La concentración promedio de anti-PCC global para esta población fue de $0,63 \pm 0,419$ U/ml (rango 0,05-3,8 U/ml).

Basándose en los datos de esta población de referencia y los de una población clínica, el límite sugerido para el análisis es:

Intervalo de valores de referencia

≤ 5 U/ml = negativo

> 5 U/ml = positivo

Este intervalo de referencia se sugiere únicamente como guía y cada laboratorio debe determinar un intervalo de referencia adecuado para la población a la que atiende, en función de los factores geográficos, de los pacientes, alimenticios, medioambientales y de la práctica clínica. Hay que señalar que la artritis reumatoide tiene una prevalencia casi doble en mujeres que en hombres.

DATOS SOBRE EL RENDIMIENTO

Linealidad de la dilución

El análisis anti-PCC Axis-Shield está diseñado para ser lineal en todo el intervalo de medición desde el LDD hasta 300 U/ml.

Basándose en un estudio realizado con la guía del Documento EP6-A del CLSI,²³ el análisis anti-PCC de Axis-Shield demostró linealidad de 1,04 U/ml a 300 U/ml.*

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Las muestras > 300 U/ml presentan una recuperación media del $\leq 100\% \pm 15\%$ * del resultado previsto cuando se diluyen dentro del intervalo del ensayo y se utiliza el factor de dilución correcto.

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Sensibilidad y especificidad clínicas

Se determinó la sensibilidad clínica del análisis anti-PCC de Axis-Shield (FCCP600) para 229 personas con AR confirmada y se determinó la especificidad clínica para 285 muestras no AR (135 de pacientes con otros trastornos reumáticos y no reumáticos y 150 de pacientes aparentemente sanos asintomáticos). Utilizando un límite de 5,0 U/ml, se calculó la sensibilidad en el 78% con una especificidad del 99%. En las tablas siguientes se resumen los resultados.*

Categoría de la muestra	Total n	Positivo n	% Sensibilidad
AR	229	179	78

Categoría de la muestra	Total n	Positivo n	% Especificidad
Muestras no AR en total	285	4	98,6
Asintomáticos sanos no AR	150	1	99,3
Muestras de enfermedad no AR ⁺	135	3	97,8

⁺ En la siguiente tabla se categoriza la especificidad clínica de las 135 muestras de pacientes con otros trastornos reumáticos y no reumáticos.*

Muestras de enfermedades no AR	Total n	Positivo n	Especificidad clínica
Total	135	3	97,8%
Poliartritis inflamatoria	41	1	97,6%
IgG positiva para VEB	18	1	94,4%
Tiroiditis de Hashimoto	17	0	100%
Síndrome de Sjögren	16	1	93,8%
Lupus eritematoso sistémico	16	0	100%
Vasculitis	5	0	100%
Escleroderma	5	0	100%
Artrosis	4	0	100%
Enfermedad de Crohn	3	0	100%
Fenómeno de Raynaud	3	0	100%
Colitis ulcerosa	2	0	100%
Artritis psoriásica	2	0	100%
Artritis reactiva	1	0	100%
Espondilitis anquilosante y polimiositis	2	0	100%

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Comparación de métodos

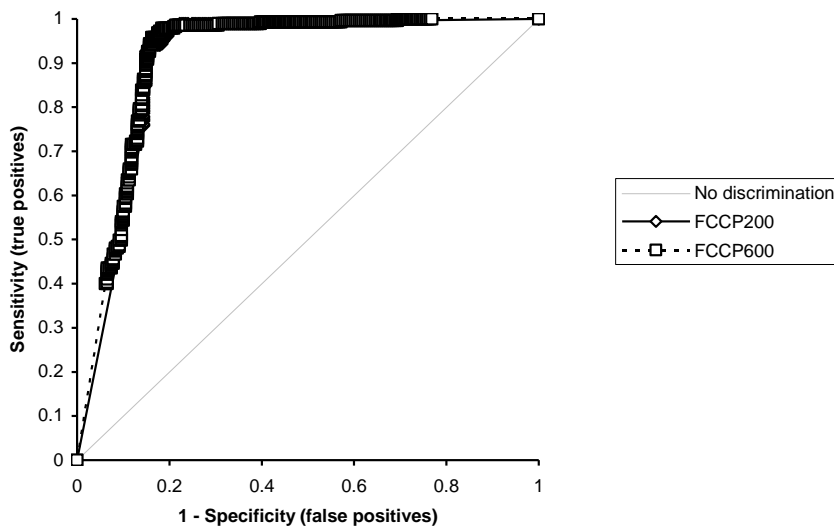
El análisis anti-PCC de Axis-Shield FCCP600 está diseñado para tener una concordancia de $\geq 99\%$ para muestras de AR y no AR en comparación con un análisis anti-PCC de Axis-Shield de referencia (FCCP200). Las muestras de AR y no AR que se describen en el apartado de sensibilidad y especificidad clínicas se utilizaron para comparar el análisis anti-PCC de Axis-Shield FCCP600 con el análisis anti-PCC de Axis-Shield FCCP200. El límite empleado para el análisis anti-PCC de Axis-Shield FCCP200 fue de 5,0 U/ml, tal como se indica en el prospecto del fabricante. Con un límite de 5,0 U/ml para el análisis anti-PCC de Axis-Shield FCCP600, se calculó que la concordancia era del 99%. En las tablas siguientes se resumen los resultados.*

Todas las muestras (514)		FCCP200	
		Positivo	Negativo
FCCP600	Positivo	179	4
	Negativo	1	330

Método de comparación	FCCP600 frente a FCCP200
Número de muestras	65
Curva de regresión	0,910
Interceptación de Y	1,226
Coefficiente de correlación	0,94

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Se efectuó un análisis de la característica operativa del receptor (ROC, Receiver Operator Characteristic) utilizando los datos anteriores para ambos análisis. El área bajo la curva (AUC) para el análisis anti-PCC de Axis-Shield FCCP600 fue de 0,910 (intervalo de confianza 95%: 0,881-0,940) y 0,903 (intervalo de confianza 95%: 0,871-0,934) para el análisis anti-PCC Axis-Shield de referencia FCCP200, lo que indica que ambos análisis son equiparables en cuanto a la diferenciación clínica. A continuación se muestra la curva del análisis ROC.*



* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Precisión

Se realizó un estudio siguiendo el Documento EP5-A2 del CLSI (antes NCCLS).²⁴ Se analizaron dos controles anti-PCC, seis miembros del panel de CC y una muestra de suero humano utilizando dos lotes de reactivos, en réplicas de dos, en dos momentos del día diferentes durante 20 días (n=80). Los datos de este estudio se resumen en la tabla siguiente como datos representativos (*redondeados a 1 decimal*):

Muestra	Lote del kit	n	Media (U/ml)	Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
				DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
Control positivo	001	80	20,30	1,05	5,2	1,24	6,1	0,00	0,0	1,63	8,0
	003		20,62	0,43	2,1	1,20	5,8	0,00	0,0	1,27	6,2
CC 1	001	80	3,72	0,33	8,8	0,17	4,5	0,13	3,6	0,39	10,5
	003		3,92	0,23	5,8	0,35	8,9	0,04	1,1	0,42	10,7
CC 2	001	80	8,17	0,34	4,2	0,72	8,8	0,00	0,0	0,80	9,8
	003		8,47	0,30	3,6	0,70	8,3	0,25	2,9	0,80	9,5
CC 3	001	80	15,30	0,37	2,4	0,93	6,0	0,30	1,9	1,04	6,8
	003		15,98	0,36	2,2	0,92	5,8	0,00	0,0	0,99	6,2
CC 4	001	80	53,55	2,30	4,3	3,19	6,0	1,71	3,2	4,29	8,0
	003		55,49	2,36	4,2	3,35	6,0	0,00	0,0	4,09	7,4
CC 5	001	80	94,26	3,17	3,4	7,31	7,8	2,01	2,1	8,22	8,7
	003		97,15	2,61	2,7	5,56	5,7	4,79	4,9	7,79	8,0
CC 6	001	80	134,77	4,58	3,4	5,84	4,3	5,74	4,3	9,38	7,0
	003		142,41	5,69	4,0	9,02	6,3	0,00	0,0	10,67	7,5
Control de Ref.	001	80	5,18	0,34	6,6	0,24	4,6	0,21	4,0	0,46	9,0
	003		5,09	0,26	5,1	0,21	4,1	0,21	4,2	0,39	7,7
Muestra 1	001	80	4,83	0,16	3,3	0,38	7,9	0,24	5,0	0,48	9,9
	003		4,77	0,20	4,1	0,37	7,8	0,25	5,2	0,49	10,2

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Límite de detección

Se encontró que el límite de detección (LDD) del análisis anti-PCC de Axis-Shield según el Documento EP17-A²⁵ del CLSI (antes NCCLS) era de 1,04 U/ml.*

Las determinaciones del LDD se realizaron utilizando una muestra anti-PCC negativa (60 réplicas) y seis muestras anti-PCC de nivel bajo (15 réplicas cada una).

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

"High Dose Hook"

El efecto High Dose Hook es un fenómeno por el cual muestras con concentraciones muy elevadas pueden dar una lectura dentro del intervalo dinámico del ensayo. Para el análisis anti-PCC de Axis-Shield, no se observó ningún efecto High Dose Hook al analizar una muestra que contenía aproximadamente 3000 U/ml de anticuerpo anti-PCC.*

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

Interferencia

El análisis anti-PCC de Axis-Shield está diseñado para tener una desviación máxima en la concentración anti-PCC de los siguientes componentes con capacidad potencial de interferir dentro de:

- $\pm 15\%$ para concentraciones anti-PCC $\geq 10,0$ U/ml
- $\pm 10\%$ para concentraciones anti-PCC $\geq 4,0$ U/ml a $< 10,0$ U/ml
- $< 0,75$ U/ml para concentraciones anti-PCC $< 4,0$ U/ml

Se llevó a cabo un estudio basado en las pautas del Documento EP7-A2²⁶ del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) para el análisis anti-PCC de Axis-Shield. Se complementaron seis muestras con niveles anti-PCC de todo el intervalo del análisis con los compuestos con capacidad potencial de interferir enumerados en la tabla siguiente. Durante estos estudios, la desviación máxima observada en las muestras de la concentración anti-PCC osciló entre:

- $-9,4\%$ y $3,3\%$ para concentraciones anti-PCC $\geq 10,0$ U/ml
- $-7,3\%$ y $4,8\%$ para concentraciones anti-PCC $\geq 4,0$ U/ml a $< 10,0$ U/ml
- $-0,6$ U/ml y $0,05$ U/ml para concentraciones anti-PCC $< 4,0$ U/ml*

Sustancia con capacidad potencial de interferir	No se encontró ninguna interferencia hasta la siguiente concentración
Hemoglobina	4 mg/ml
Bilirrubina	0,2 mg/ml
Triglicéridos (Solución Intralipid)	15 mg/ml
Factor reumatoide	200 UI/ml
Proteína total (Gammaglobulinas)	120 mg/ml

* Datos representativos. Los resultados en laboratorios individuales pueden variar respecto a estos datos.

LIMITACIONES DE USO

1. Aunque la presencia de anticuerpos a PCC se asocia con la artritis reumatoide, un resultado positivo no supone por sí mismo un diagnóstico, se deben considerar los datos a la luz de otros resultados clínicos y analíticos.
2. Algunas personas pueden presentar concentraciones elevadas de anticuerpos anti-PCC con pocos o ningún indicio de patología clínica. En cambio, algunos pacientes con enfermedad activa pueden tener concentraciones indetectables de estos anticuerpos. Actualmente no está clara la significación clínica de esta información.
3. Como el resultado de un análisis anti-PCC no supone una prueba diagnóstica de la presencia o ausencia de patología clínica, no se debe iniciar el tratamiento en base únicamente a un resultado positivo para anti-PCC.
4. El inicio o los cambios de tratamiento no deben basarse en cambios en la concentración de autoanticuerpos anti-PCC, sino en las observaciones clínicas.
5. Aún no se ha definido la efectividad clínica del control de los niveles de autoanticuerpos PCC como indicación de la progresión/remisión de la artritis reumatoide.
6. Aún no se ha determinado el valor del anti-PCC en la artritis juvenil.
7. Debido a las características específicas de las interacciones antígeno/anticuerpo, no se determina la concentración de anticuerpos, sino su actividad. Ya que el suero de los pacientes contiene poblaciones de anticuerpos heterogéneas, algunas muestras pueden mostrar no linealidad, especialmente en muestras muy diluidas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid Arthritis. *Cell* 1996;85:307-10.
2. Landewé RB. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):1-5
3. Lard LR, Visser H, Speyer I, *et al.* Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001;111:446-51.
4. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-24.
5. van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med* 2002;60(10):383-8.
6. Nienhuis RL, Mandema E, Smids C. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964;23:302-05.
7. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, *et al.* Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979;2:97-9.
8. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, *et al.* Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50:611-8.
9. Sebbag M, Simon M, Vincent C, *et al.* The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95:2672-9
10. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, *et al.* PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *BioEssays* 2003;25:1106-18
11. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, *et al.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101(1):273-81
12. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, *et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):155-63.
13. Vossenaar ER, van Venrooij WJ. Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. *Clin Applied Immunol Rev* 2004;4:239-62.
14. Pruijn GJ, Vossenaar ER, Drijfhout JW, *et al.* Anti-CCP antibody detection facilitates early diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Current Rheumatology Reviews* 2005;1(1):1-7.
15. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, *et al.* Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(10):2741-49
16. Nielen MM, van Schaardenbur D, Reesink HW, *et al.* Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50 (2):380-386
17. van Gaalen, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, *et al.* Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(3):709-15
18. Meyer O, Labarre C, Dougados M, *et al.* Anticitrullinated protein / peptide antibody assays in early Rheumatoid Arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:120-26
19. Forslind K, Ahlmén M, Eberhardt K, *et al.* Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1090-95
20. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, *et al.* Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1085-89
21. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al.* 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. An American College of Rheumatology/European League against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum* 2010; 62 (9):2569-81
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
23. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
24. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS document EP5-A2. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
25. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. NCCLS document EP17-A Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

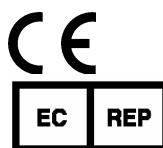
Axis-Shield Diagnostics Limited

The Technology Park, Dundee DD2 1XA, UK.

Tel: +44 (0) 1382 422000,
Fax: +44 (0) 1382 422088.

E-mail: shield@axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com










EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)
Schiffgraben 41,
30175 Hannover,
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630

Fax: + (49) 511 6262 8633

IVD	Para uso en diagnóstico <i>in vitro</i>
REF	Número de catálogo
LOT	kit
	96 pruebas
	Precaución
	Consulte las instrucciones de uso
	Proteger de la luz
	Fecha de caducidad
	Almacenar entre 2°C y 8°C
Rx Only	Solo con receta médica
	Fabricado por
CONTROL +	Control positivo
CONTROL -	Control negativo
CONJ	Conjugado
SUBS	Sustrato
SOLN STOP	Solución de parada
BUF WASH 10 X	Tampón de lavado
MTP 8 x 12	Tiras de microtitulación (separables)
SAMPLE DIL 5 X	Diluyente de muestra
CAL 1	Calibrador 1
CAL 2 - CAL 6	Calibrador 2-6
CONTROL REF	Control de referencia