



SISTEMA DE DETECCIÓN SELECTIVA DE ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA RELISA®

Para Uso Diagnóstico In Vitro

Para El Uso Profesional

Número de catálogo: 7096-01 (96 pocillos) y 7696-01 (576 pocillos)

USO PREVISTO: Se trata de un sistema de análisis inmunoenzimático (EIA) para la detección cualitativa de anticuerpos IgG, IgA o IgM anticardiolipina en suero humano. Este sistema de análisis debe servir de ayuda para evaluar el riesgo de sufrir trastornos trombóticos en individuos con lupus eritematoso sistémico o con síndromes similares al lupus.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

En pacientes con lupus eritematoso sistémico es frecuente detectar anticuerpos antifosfolípidos, incluidos los anticuerpos anticardiolipina (1). En numerosos informes estos autoanticuerpos han sido asociados a diversos trastornos trombóticos venosos y arteriales, como el infarto cerebral (2), la trombosis venosa profunda (3), la trombocitopenia (1), la embolia pulmonar (4) y el aborto recurrente con infarto placentario (5). El “anticoagulante lúpico” (6), una sustancia que prolonga in vitro el tiempo parcial de tromboplastina activada, también se ha asociado a estos síndromes clínicos, aunque no es idéntico al anticuerpo anticardiolipina. En ocasiones los términos “anticoagulante lúpico” y “anticuerpos antifosfolípidos” se emplean como sinónimos, lo cual es incorrecto porque estas inmunoglobulinas no son lo mismo (1).

El sistema de análisis de Immuno Concepts es una prueba inmunoenzimática con micropocillos para la detección de anticuerpos anticardiolipina en suero humano. Anteriormente se ha demostrado que el inmunoanálisis en fase sólida es un método extremadamente sensible y específicos para la detección de anticuerpos anticardiolipina (7-10). El sistema de análisis de Immuno Concepts ha sido estandarizado mediante un preparado de referencia reconocido internacionalmente, obtenido del Antiphospholipid Standardization Laboratory y que se denomina “estándar de Harris” (9). Los resultados cualitativos obtenidos en esta prueba indican la presencia o ausencia de anticuerpos anticardiolipina.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Se trata de un EIA cualitativo indirecto. La superficie de los micropocillos ha sido recubierta con un preparado estabilizado de cardiolipina, que actúa como antígeno en este sistema. Se dispone suero calibrador, controles y las muestras diluidas de los pacientes en los micropocillos, y se incuban permitiendo que los anticuerpos anticardiolipina de la muestra reaccionen con el antígeno de la fase sólida. Tras lavar para retirar el anticuerpo no ligado y otras proteínas del suero, se incuban los pocillos con anticuerpos humanos de cabra, marcados con peroxidasa de rábano. El preparado de anticuerpos conjugados con peroxidasa de rábano que se incluye en el sistema de análisis detectará IgG, IgA y/o IgM humanas, pero sin distinguir entre ellas. Para la detección y semicuantificación de los anticuerpos anticardiolipina específicos de tipo IgG e IgM, utilice el sistema de análisis de anticuerpos anticardiolipina de tipo IgG e IgM RELISA® de Immuno Concepts, número de catálogo 7096-02.

Tras la incubación con los conjugados de peroxidasa de rábano, y si los resultados son positivos, se forma un complejo estable con tres partes, a saber: anticuerpo antihumano conjugado con peroxidasa de rábano unido al anticuerpo anticardiolipina humano, unido a su vez a la cardiolipina estabilizada en la superficie de plástico.

Tras otro paso de lavado se detecta el complejo añadiendo una solución de tetrametilbenzidina (TMB) y H₂O₂ como sustrato cromógeno. El grado de aparición del color en cada pocillo es proporcional a la concentración de anticuerpos anticardiolipina en cada muestra de suero.



Los micropocillos son interpretados con un espectrofotómetro, y los resultados se obtienen comparando la absorbancia de los pocillos con calibrador con la absorbancia de los pocillos con muestra.

COMPONENTES DEL SISTEMA - MATERIALES SUMINISTRADOS

Conservación: Todos los componentes deben conservarse en refrigerador a 2-10°C. No congelar.

Estabilidad: Todos los componentes son estables al menos durante 12 meses a partir de la fecha de fabricación. No utilice los componentes pasada la fecha de caducidad.

REACTIVOS

Tiras de micropocillos recubiertos con cardioplipina [PLATE]: No. de catálogo 7008-01. Contiene un soporte de micropozos con doce tiras de ocho pozos cada una, recubiertos con una solución estabilizada de difosfatidilglicerol (cardiolipina) de corazón de ternera. Si se necesitan menos de 8 pocillos se pueden separar los que sean necesarios. Los pocillos sin usar se pueden regresar a la bolsa de aluminio con el sobrecito disecante, cerrandolo con el sello de cierre (cremallera), y refrigerandolo hasta un máximo de 45 días.

Disolvente de muestras [SOLN|DIL]: Número de catálogo 7100 (100 ml). Disolvente para muestras tamponado y registrado, para disolver las muestras de pacientes. Este disolvente contiene cofactor H de apolipoproteína.

Suero de control positivo de anticuerpos anticardiolipina [CONTROL|+]: Número de catálogo 7021-01. Vial que contiene 2 ml de suero de control humano positivo para anticardiolipina, listo para usar. Este suero contiene anticuerpos anticardiolipina IgG, IgM o IgA. En esta prueba, este suero se colorea intensamente en caso positivo.

Suero de control negativo de anticuerpos anticardiolipina [CONTROL|-]: Número de catálogo 7031-01. Vial que contiene 2 ml de suero de control humano negativo para anticardiolipina, listo para usar. En esta prueba este suero no se colorea.

Suero calibrador de anticuerpos anticardiolipina [CAL]: Número de catálogo 7026-01. Vial que contiene 2 ml de suero de suero calibrador positivo anticardiolipina humano estable líquido, listo para usar. Este suero contiene anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM. Este suero de calibración proporciona los valores de corte para la prueba.

Reactivo enzimático para anticuerpos - específico de las IgG, IgA e IgM humanas [CONJ|HRP]: Número de catálogo 7009-01 (14 ml). IgG, IgM e IgA antihumana polivalente, conjugada con peroxidasa de rábano (HRP). Listo para usar.

Solución sustrato [SOLN|SUB]   : Número de catálogo 7035 (14 ml). Solución de sustrato enzimático específica de HRP, que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Listo para usar. **PELIGRO:** Inflamable. Este reactivo contiene menos de 25% de metanol y acetona. Manténgalo fuera del alcance de los niños. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con abundante agua y consultar a un médico.

Reactivo de parada [SOLN|STOP]   : Número de catálogo 7033 (14 ml). Reactivo de parada patentado para los sistemas de análisis EIA de Immuno Concepts. Listo para usar. **PELIGRO:** Corrosivo. Este reactivo contiene ácido clorhídrico y ácido sulfúrico (menos del 3% de cada uno, por volumen) y debe ser manipulado con precaución. Manténgase fuera del alcance de los niños. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con agua abundante y acudir al médico. No añadir agua a este reactivo en ningún caso.

ELEMENTOS NO REACTIVOS

Soporte para micropocillos

Tampón de lavado PBS [PWDR|PBS]: N° de catálogo 1011. Polvo salino tamponado con fosfato (0,01 M, pH 7,4 ± 0,2). Cada bolsa contiene polvo tampón suficiente para formar 1 litro de tampón de lavado. (Se suministran dos bolsas de polvo tampón con cada placa de 96 micropocillos, en kits de análisis completos).

Preparación: Disuelva una bolsa de polvo tampón en 1 litro de agua desionizada o destilada y almacenar entre 2-25 ° C durante 4 semanas como máximo, o hasta que aparezcan signos de contaminación u otros cambios visibles. NO AÑADA TWEEN 20 NI OTROS DETERGENTES A ESTE TAMPÓN.

OTROS MATERIALES NECESARIOS - PERO QUE NO SE SUMINISTRAN

Pipetas volumétricas de precisión para dispensar volúmenes de 10-1000 µl
Frasco deformable para añadir tampón de lavado a los micropocillos, o un sistema de lavado automático para micropocillos
Envases de un litro para el tampón PBS
Agua desionizada o destilada
Espectrofotómetro de lectura de placas capaz de interpretar absorbancia a 450 nm
Probetas para preparar las diluciones de suero
Papel secante o toallas de papel
Pipeta multicanal capaz de dispensar a 8 pocillos
Guantes desechables
Cronómetro

PRECAUCIONES

1. Todos los materiales de procedencia humana utilizados en este producto han sido analizados en busca de anticuerpos con el virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1), el virus de la inmunodeficiencia humana-2 (VIH-2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAG) con métodos homologados por la FDA, obteniendo resultados negativos (no reactivos en varias ocasiones) en todos los casos. Pero no existe ningún método de análisis que pueda garantizar por completo la ausencia de VIH-1, VIH-2, hepatitis C, hepatitis B u otros agentes infecciosos. Por eso todos los materiales del kit deben ser manipulados como si fueran infecciosos.
2. Todos los sueros de control, los sueros de calibración y las muestras de pacientes deben ser manipuladas según el nivel 2 de bioseguridad, según recomienda en el manual de los Centers for Disease Control/National Institutes of Health para toda muestra de suero o sangre humana potencialmente infecciosa: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999 Edition*.
3. En los sueros de control y calibración se emplea azida sódica (0,09%) como conservante. La azida sódica puede reaccionar con las conducciones de plomo o cobre y formar sales de azidas metálicas muy explosivas. Al eliminar los reactivos, lavar con grandes volúmenes de agua del grifo para evitar que queden residuos en las tuberías. La azida sódica es venenosa y puede ser tóxica en caso de ingestión.
4. La disolución de los componentes o su sustitución por otros distintos de los suministrados con el sistema puede arrojar resultados incoherentes.
5. No inactive por calor las muestras de suero utilizadas para determinar anticuerpos anticardiolipina. La inactivación por calor puede hacer que aumenten los valores.
6. Este kit es para uso diagnóstico *in vitro*.
7. No pipetee nunca con la boca y evite el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y las mucosas. En caso de contacto, lávese con un jabón germicida y agua abundante.
8. Esta prohibido fumar, comer o beber en las zonas de manipulación de las muestras o los reactivos del kit.
9. Evite salpicaduras y la generación de aerosoles en todo momento.
10. Si los tiempos de incubación y las temperaturas no son los especificados, los resultados pueden ser erróneos.
11. La contaminación cruzada de los reactivos o de las muestras puede dar resultados falsos. Las muestras deben permanecer en los micropocillos durante el análisis.
12. Los elementos de vidrio reutilizables deben ser lavados y enjuagados a fondo para eliminar los detergentes antes de su uso. Todos los elementos de vidrio deben estar limpios y secos antes de su uso.
13. Todos los reactivos, micropocillos y muestras deben estar a temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso.
14. Para manipular las muestras y los reactivos debe utilizar guantes desechables, y cuando acabe deberá lavarse bien las manos.
15. La contaminación microbiana de los reactivos o de las muestras puede dar resultados falsos.
16. El reactivo de parada es corrosivo y puede producir quemaduras. Este reactivo contiene ácido clorhídrico y ácido sulfúrico (menos del 3% de cada uno, por volumen) y debe ser manipulado con precaución. Manténgase fuera del alcance de los niños. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con agua abundante y acudir al médico. No añadir agua a este reactivo en ningún caso.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Obtención: La muestra ideal es suero. Se obtendrán aproximadamente 5 ml de sangre por venipunción aséptica, con un tubo de vacío estéril u otro sistema de obtención adecuado. Deje que la sangre coagule a temperatura ambiente (18-25°C). Se separará el suero del coágulo por centrifugado cuanto antes, para que la hemólisis sea mínima. Immuno Concepts no recomienda utilizar plasma en este análisis, dada la posibilidad de que el plasma se contamine con plaquetas. Las plaquetas pueden afectar a los resultados, reaccionando con los anticuerpos anti-fosfolípidos.

PRECAUCIÓN: *No inactive por calor las muestras de suero utilizadas para determinar los anticuerpos anticardiolipina. La inactivación por calor puede hacer que aumenten los valores.*

Sustancias que interfieren: No se utilizarán sueros que muestren grados elevados de hemólisis, ictericia, lipemia o crecimiento microbiano, pues en todas esas circunstancias se pueden producir resultados aberrantes. Si la muestra presenta partículas visibles, deben ser eliminadas por centrifugado antes de la prueba.

Conservación: Los sueros se pueden conservar a 2-10°C durante una semana como máximo. Si el análisis se posterga, los sueros deben conservarse congelados a una temperatura de -20°C o inferior. No se utilizarán refrigeradores ni congeladores con sistema "auto-frost" (eliminación automática de la escarcha).

PRECAUCIÓN: *Si las muestras son sucesivamente congeladas y descongeladas, se pueden obtener resultados falsos positivos y negativos.*

OBSERVACIONES GENERALES SOBRE EL PROCEDIMIENTO

1. Es muy importante que todos los componentes del kit y las muestras de suero estén a temperatura ambiente (18-25°C) antes de utilizarlos. Para que un litro entero de tampón de lavado sacado del refrigerador alcance los 20°C, puede ser necesario calentar durante varias horas. Si las temperaturas de incubación son superiores o inferiores a las recomendadas puede que los resultados no sean precisos. Las muestras y reactivos no utilizados deben ser devueltos al refrigerador.
2. Mezcle bien los reactivos antes de utilizarlos, dando la vuelta al envase con suavidad. No agite ni remueva los reactivos. Evite que se forme espuma.
3. Para preparar las diluciones de muestras, limpie la punta de las pipetas antes de utilizarlas para poner suero en el disolvente. Si queda muestra adherida al exterior de la punta de la pipeta, los resultados pueden variar.
4. Se recomienda utilizar una pipeta multicanal porque con ella la dispensación del reactivo y los tiempos de incubación y reacción son más uniformes.
5. **Es extremadamente importante lavar bien los pocillos.** Si no es así, los valores de fondo serán muy elevados, lo que se puede traducir en resultados falsos positivos. Para el lavado manual, aspire el contenido de los pocillos y a continuación lave cada uno con solución tampón de lavado. Evite la contaminación cruzada de los pocillos, sobre todo en el lavado siguiente a la aspiración. Elimine todo el tampón de los pocillos dándoles la vuelta; los residuos de tampón de lavado se quitan con un movimiento brusco de la muñeca. Repita estos pasos hasta un total de 3 a 5 lavados. A continuación, se pasará con fuerza una toalla de papel u otro material absorbente por los pocillos para retirar todo vestigio de tampón de lavado. Se recomienda utilizar un sistema de lavado automático de los micropocillos, ya que así su limpieza queda garantizada.
NOTA: Como existen diversas técnicas de lavado y de sistemas automáticos, hay que ajustar el número de lavados para que los resultados sea óptimos. Cada laboratorio determinará el número de lavados más eficaz para su sistema de lavado.
6. Si no se elimina todo el tampón puede que la aparición de color no sea homogénea. Para ello, hay que limpiar con fuerza las tiras de micropocillos, secándolas con papel secante o toallas absorbentes.
7. El tiempo de cada paso es fundamental. Antes de iniciar el procedimiento se disolverán las muestras de suero, que deben ser dispuestas en los micropocillos en el menor tiempo posible (no más de cinco minutos). Los tamaños de lote deben determinarse de forma que se puedan manipular las muestras en este período de tiempo con comodidad.
8. A excepción de la última incubación (solución de sustrato), cada período de incubación empieza al finalizar la dispensación de la muestra o el reactivo. La incubación de la solución de sustrato deben durar exactamente 15 minutos para cada pocillo. Todas las muestras y reactivos deben dispensarse con la misma secuencia y a velocidad constante.
9. No utilice Tween 20, Triton X-100, ni otros detergentes en los tampones de lavado u otros reactivos utilizados en este análisis.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

CÁLCULOS

Reste el valor de la absorbancia del pocillo sin Ig, de los valores de absorbancia obtenidos en los pocillos de calibración, control y muestra del paciente, para obtener los valores de absorbancia netos. Calcule los valores medios netos de la absorbancia en dos pocillos.

CONTROL DE CALIDAD

1. El valor medio neto de la absorbancia de los pocillos de calibración debe ser de 0,150 como mínimo. En esta prueba el valor de corte es el valor neto medio de la absorbancia en el calibrador.
2. El pocillo de control vacío debe presentar un valor de absorbancia inferior a 0,100. Si los valores de absorbancia en el pocillo vacío son superiores a 0,100, ello indica que el lavado no ha sido adecuado o que se han contaminado los reactivos.
3. Los pocillos que contienen control positivo deben dar un valor neto de la absorbancia superior al valor de corte. Los pocillos que contienen control negativo deben dar un valor neto de la absorbancia inferior al valor de corte. Si los controles no se corresponden con estos límites, la prueba no es válida y debe repetirse.
4. Hay que obtener el valor de corte en cada ciclo. Si se emplea el valor de corte de otro ciclo, los resultados no serán válidos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PACIENTE

1. Se considera que los pocillos con muestras de pacientes que presenten valores netos de la absorbancia superiores o iguales al valor de corte, son positivos para los anticuerpos anticardiolipina. Se considera que los pocillos con muestras de pacientes que presenten valores netos de la absorbancia inferiores al valor de corte, son negativos para los anticuerpos anticardiolipina.
2. Los pocillos de muestras que presenten valores netos de la absorbancia inferiores al valor de corte, pero menos de un 5%, se consideran en el límite. Los resultados en el límite obligan a repetir la prueba o a determinar los anticuerpos anticardiolipina de tipo IgG e IgM específicos, con el sistema de análisis de anticuerpos anticardiolipina de tipo IgG e IgM RELISA® de Immuno Concepts, número de catálogo 7096-02.

NOTIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS

Se indicará si el resultado es positivo o negativo para los anticuerpos anticardiolipina.

RESULTADOS ESPERADOS

Prevalencia de anticuerpos prevista

La asociación entre los anticuerpos anticardiolipina y el lupus eritematoso sistémico ha sido demostrada en numerosos estudios (1, 7, 8, 11-16). En estos estudios, la prevalencia de anticuerpos anticardiolipina de tipo IgG fue del 23% al 54% (media del 41,4%), y la prevalencia de anticuerpos anticardiolipina de tipo IgM fue del 5% al 41% (media del 25,5%). Probablemente las diferencias en la prevalencia que se observan en estos estudios se deben a los criterios de selección de los pacientes y a la población estudiada. Se utilizó el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts para evaluar muestras de suero de 68 pacientes atendidos en consultas de reumatología. Esta población de pacientes fue elegida por padecer enfermedades reumáticas clínicas, pero no una enfermedad concreta. En esta población, veintitrés muestras (38,3%) dieron positivo para los anticuerpos anticardiolipina.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No es posible hacer un diagnóstico basándose sólo en la detección de anticuerpos anticardiolipina. El médico debe interpretar estos resultados en el contexto de la historia y los síntomas del paciente, los hallazgos físicos y otros procedimientos diagnósticos.
2. No se debe iniciar un tratamiento basándose exclusivamente en un resultado positivo del análisis de anticuerpos anticardiolipina. Antes de iniciar un tratamiento hay que tener en cuenta las indicaciones clínicas, otros hallazgos de laboratorio y la impresión clínica del médico.
3. Si el paciente da negativo para los anticuerpos anticardiolipina pero los hallazgos clínicos sugieren la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, algunos investigadores recomiendan evaluar el anticoagulante lúpico para confirmar los resultados negativos para los Ac anticardiolipina. Si los anticuerpos anticardiolipina o el anticoagulante lúpico dan positivo, se considera que el paciente es positivo para los anticuerpos antifosfolípidos (1).

4. Los pacientes con sífilis serológicamente positiva pueden dar positivo en el análisis de anticuerpos anticardiolipina. En general, se considera que estos pacientes no presentan un aumento del riesgo de trombosis, como se observa en los pacientes reumáticos con anticuerpos anticardiolipina. Diecisiete muestras de pacientes con sífilis activa o serológica confirmada (Ac FTA y/o MHA-TP positivas) fueron evaluadas mediante el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts. Trece (76,5%) de las muestras dieron positivo para los anticuerpos anticardiolipina. El diagnóstico de sífilis debe ser confirmado o descartado mediante la prueba concreta de anticuerpos antitreponema.
5. Muchas infecciones pueden provocar la presencia transitoria de anticuerpos anticardiolipina. Si un paciente da positivo mientras presenta signos clínicos de infección, se repetirá la prueba cuando la infección haya desaparecido.
6. Éste es un análisis cualitativo que determina la presencia o ausencia de anticuerpos anticardiolipina. No se puede utilizar para medir cantidades de anticuerpos.
7. Éste es un análisis de detección selectiva que emplea un conjugado de inmunoglobulinas antihumanas polivalente. Detectará anticuerpos anticardiolipina de tipo IgG, IgM o IgA, pero sin distinguir entre ellos.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Controles normales: Se aplicó el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts a las muestras de suero de 141 donantes de sangre sanos. Cinco de estas muestras dieron positivo para los anticuerpos anticardiolipina. A juzgar por esta población normal no seleccionada, el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts tiene una especificidad del 96,5% para los anticuerpos anticardiolipina.

Controles de enfermedades reumáticas: Se aplicó el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts a muestras de suero de 20 pacientes con enfermedades reumáticas distintas del LES y sin antecedentes de episodios trombóticos. Ninguna de estas muestras dio positivo para los anticuerpos anticardiolipina. En esta población seleccionada, la especificidad de la prueba fue del 100%.

SENSIBILIDAD CLÍNICA

Se utilizó el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts para evaluar muestras de suero de 68 pacientes atendidos en consultas de reumatología. Esta población de pacientes fue elegida por padecer enfermedades reumáticas clínicas, pero no una enfermedad concreta. En esta población, veintitrés muestras (38,3%) dieron positivo para los anticuerpos anticardiolipina.

Se aplicó el sistema de detección selectiva de anticuerpos anticardiolipina RELISA® de Immuno Concepts a muestras de suero de 20 pacientes con LES y antecedentes de un episodio trombótico como mínimo. Quince (75%) de las muestras dieron positivo para los anticuerpos anticardiolipina.

BIBLIOGRAFICI

- Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R.V. Anti-phospholipid Antibodies. Clin. Rheum. Dis. 11:591-609, 1985.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., Asherson, R.A., et al. Cerebral infarction in systemic lupus erythematosus: association with anticardiolipin antibodies. Clin. Exp. Rheumatol. 2:47-51, 1984.
- Mueh, J.R., Herbst, K.D., Rapaport, S.I. Thrombosis in patients with the lupus anticoagulant. Ann. Intern Med. 92:156-159, 1980.
- Anderson, N.E., Ali, M.R. The lupus anticoagulant, pulmonary thromboembolism and fatal pulmonary hypertension. Ann. Rheum. Dis. 43:760-763, 1984.
- Derue, G.J., Englert, H.J., Harris, E.N., et al. Fetal loss in systemic lupus erythematosus: association with anticardiolipin antibodies. J. Obstet. Gynaecol. 5:207-209, 1985.
- Boey, M.L., Colaco, C.B., Gharavi, A.E., Elkon, K.B., Loizou, S., and Hughes, G.R.V. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. Brit. Med. J. 287:1021-1023, 1983.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., Boey, M.L., Patel, B.M., Mackworth-Young, C.G., Loizou, S., and Hughes, G.R.V. Anticardiolipin Antibodies: Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus Erythema-tosus. Lancet ii:1211-1214, 1983.
- Loizou, S., McCreagh, J.D., Rudge, A.C., Reynolds, R., Boyle, C.C., and Harris, E.N. Measurement of anticardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. Clin. Exp. Immunol 62:738-745, 1985.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R.V. Anticardiolipin antibody testing: the need for standardization. Arth. Rheum. 30:835-837, 1987.
- Harris, E.N. Solid-phase anticardiolipin test revisited. Am. J. Med. 85:599-601, 1988.
- Colaco, C.B., Male, D.K. Anti-phospholipid antibodies in syphilis and a thrombotic subset of SLE: distinct profiles of epitope specificity. Clin. Exp. Immunol. 59:449-456, 1985.
- McHugh, N.J., Maymo, J., Skinner, R.P., James, I., and Maddison, P.J. Anticardiolipin antibodies, livedo reticularis, and major cerebrovascular and renal disease in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 47:110-115, 1988.
- Koike, T., Sueishi, M., Funaki, H., Tomioka, H., and Yoshida, S. Anti-phospholipid antibodies and biological false positive serological test for syphilis in patients with systemic lupus erythematosus. Clin. Exp. Immunol. 56:193-199, 1984.
- Cronin, M.E., Biswas, R.M., Van der Straeten, C., Fleisher, T.A., and Klippel, J.H. IgG and IgM Anticardiolipin Antibodies in Patients with Lupus with anticardiolipin antibody associated clinical syndromes. J. Rheumatol. 15:795-798, 1988.
- Sturfelt, G., Nived, O., Norberg, R., Thorstensson, R., and Krook, K. Anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arth. Rheum. 30:382-388, 1987.
- Ishii, Y., Nagasawa, K., Mayumi, T., and Niho, Y. Clinical importance of persistence of anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 49:387-390, 1990.

En caso de daños al envoltorio protector, póngase en contacto con Immuno Concepts antes de usar el producto.



Fabricante



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Limitación De la Temperatura



Contiene suficiente para <n> pruebas



Consulte las instrucciones de uso



Dispositivo Médico De diagnóstico In vitro



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover, Germany



Immuno Concepts, N.A. Ltd. 9825 Goethe Road, Suite 350 Sacramento, CA. 95827
 Technical Support USA: 1.800.251.5115 Outside USA: 1.916.363.2649
 Email: technicalsupport@immunoconcepts.com

Cat 7096-01-I,

4.11.02.003.098-Es

Rev 5.3

© Copyright 2016

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DETECCIÓN SELECTIVA DE ANTICUERPOS CARDIOLIPINA RELISA®

Todas las muestras (incluida la solución tampón de lavado) y los micropocillos deben estar a temperatura ambiente antes de su empleo.

- 1. PREPARACIÓN DE LA HOJA DE TRABAJO**
Marque la hoja de trabajo que se adjunta con el kit, para indicar la localización de las muestras en los micropocillos. El calibrador y los controles deben analizarse por duplicado. Un pocillo debe quedar libre de reactivo. Recomendamos que todas las muestras de pacientes, el calibrador y los controles se analicen por duplicado hasta que se alcance una precisión aceptable en su laboratorio.
- 2. PREPARACIÓN DEL TAMPÓN DE LAVADO (PBS)**
Disuelva el contenido de una bolsa de tampón en un litro de agua desionizada o destilada. El tampón PBS se puede tapar y conservar a 2-25 °C durante cuatro semanas como máximo.
- 3. MUESTRAS DE PACIENTES DILUIDAS**
Disuelva las muestras de pacientes a 1:100 añadiendo 10 µl de suero a 990 µl de disolvente de muestras. Mezcle bien. Los controles y el calibrador se entregan a la dilución de trabajo, por lo que no es necesario disolverlos.
- 4. PREPARACIÓN DE LOS MICROPOCILLOS**
Saque de la bolsa el número requerido de tiras de micropocillos y colóquelos en el soporte provisto. Los micropocillos deben quedar firmemente sujetos en el soporte. Precione firmemente ambos lados de cada tira de forma que encajen bien dentro del soporte. Si emplean pocillos individuales o menos de una tira completa de pocillos asegúrese de que queden bien encajados. Los pocillos que están bien encajados no se caerán si voltea el soporte al revés. Si se necesitan menos de ocho pocillos se pueden separar los que sean necesarios. Los pocillos sin usar se pueden regresar a la bolsa de aluminio con el sobrecito desecante, cerrándolo con el sello de cierre (cremallera), y refrigerándolo hasta un máximo de 45 días.
- 5. DISPENSACIÓN DE LAS DILUCIONES DE SUERO**
Ponga 100 µl del calibrador, los controles y las muestras de pacientes en los pocillos correspondientes, como se describe en la hoja de trabajo. Ponga 100 µl de disolvente de muestras en el pocillo que no lleva reactivo.
- 6. INCUBACIÓN DE LOS MICROPOCILLOS (30 minutos a temperatura ambiente, es decir, 18-25°C)**
Incube a temperatura ambiente durante 30 minutos. Durante la incubación, la temperatura no podrá sufrir cambios bruscos. Si se desea, se pueden tapar los pocillos con cinta transparente o con toallas de papel para protegerlos del polvo u otros cuerpos extraños.
- 7. LAVADO DE LOS MICROPOCILLOS (véanse las Observaciones generales sobre el procedimiento 5 y 6)**
Lave los pocillos de 3 a 5 veces con solución tampón de lavado PBS. Para el lavado manual, aspire el contenido de los pocillos y a continuación lave cada uno con solución tampón de lavado. Evite la contaminación cruzada de los pocillos, sobre todo en el lavado siguiente a la aspiración. Elimine todo el tampón de los pocillos dándoles la vuelta; los residuos de tampón de lavado se quitan con un movimiento brusco de la muñeca. Repita estos pasos hasta un total de 3 a 5 lavados. A continuación, se pasará con fuerza una toalla de papel u otro material absorbente por los pocillos para retirar todo vestigio de tampón de lavado.
- 8. DISPENSACIÓN DE REACTIVO CON ANTICUERPOS ENZIMÁTICOS**
Ponga 100 µl de reactivo con anticuerpos enzimáticos en cada pocillo.
- 9. INCUBACIÓN DE LOS MICROPOCILLOS (30 minutos a temperatura ambiente, es decir, 18-25°C)**
Incube a temperatura ambiente durante 30 minutos. Durante la incubación, la temperatura no podrá sufrir cambios bruscos. Si se desea, se pueden tapar los pocillos con cinta transparente o con toallas de papel para protegerlos del polvo u otros cuerpos extraños.
- 10. LAVADO DE LOS MICROPOCILLOS**
Lave los pocillos de 3 a 5 veces con solución tampón de lavado PBS. Para el lavado manual, aspire el contenido de los pocillos y a continuación lave cada uno con solución tampón de lavado. Evite la contaminación cruzada de los pocillos, sobre todo en el lavado siguiente a la aspiración. Elimine todo el tampón de los pocillos dándoles la vuelta; los residuos de tampón de lavado se quitan con un movimiento brusco de la muñeca. Repita estos pasos hasta un total de 3 a 5 lavados. A continuación, se pasará con fuerza una toalla de papel u otro material absorbente por los pocillos para retirar todo vestigio de tampón de lavado.
- 11. DISPENSACIÓN DE LA SOLUCIÓN SUSTRATO**
Utilizando un cronómetro para que los intervalos sean homogéneos, ponga 100 µl de solución de sustrato en cada pocillo. La solución de sustrato se incorporará a los pocillos a velocidad constante, de forma que todos se sometan al mismo tiempo de incubación (15 minutos). La solución de sustrato incubada en pocillos con muestras positivas se volverá de color azul, y si son muestras negativas, serán incoloras o de azul muy claro.
- 12. INCUBACIÓN DE LOS MICROPOCILLOS (15 minutos exactamente a temperatura ambiente, es decir, 18-25°C)**
Incube a temperatura ambiente durante 15 minutos exactamente. Durante la incubación, la temperatura no podrá sufrir cambios bruscos.
- 13. DISPENSACIÓN DEL REACTIVO DE PARADA**
Cuando el primer pocillo haya sido incubado durante cinco minutos exactos, añada 100 µl de reactivo de parada a cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad en que se añadió la solución de sustrato a los pocillos. Tras añadir el reactivo de detención, la solución de sustrato azul se volverá amarilla y la incolora permanecerá tal cual.
- 14. INTERPRETACIÓN DE LA ABSORBANCIA DE LOS POCILLOS**
En los treinta minutos siguientes a la adición del reactivo de parada, los pocillos deben ser medidos en un espectrofotómetro de lectura de placas. Los pocillos se medirán a 450 nm, frente al pocillo sin reactivo. Si se dispone de un espectrofotómetro con doble longitud de onda, la del filtro de referencia debe ser de 600-650 nm. Si se leen los micropocillos a 450 nm sin filtro de referencia, los valores de la absorbancia serán más elevados.

ASISTENCIA TÉCNICA: +1-916-363-2649

o correo electrónico: technicalsupport@immunoconcepts.com

