

Reactivos para Determinación de Anticuerpos Antinucleares IgG

Solo para diagnóstico In Vitro

Para uso exclusivo de Laboratorios Clínicos o de Gabinetes
Conservar entre 2°C a 8°C

RESUMEN Y APLICACIÓN

Los anticuerpos antinucleares (ANA) se encuentran frecuentemente en pacientes con lupus eritematoso (LES) y comúnmente en otras enfermedades auto inmunes artritis reumatoide, enfermedades del colágeno vascular, enfermedades hepáticas crónicas, esclerosis sistémica (esclerodermia) los ANA se asocian con varios antígenos nucleares incluidos dsDNA, SSDNA, RPN, Sm, SSA.

Los ANA frecuentemente se incrementan en edades y personas aparentemente sanas que rebasan los 45 años de edad sobre todo en mujeres.

El ensayo de escrutinio de la detección de ANA se usa para el diagnóstico de diferentes enfermedades auto-inmunes.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El suero diluido del paciente es añadido a los pozos cubiertos con antígeno purificado, el anticuerpo específico IgG se encuentra presente atándose al antígeno todo aquel material que no se haya unido será lavado y desechado, la enzima conjugada será añadida para formar el complejo antígeno anticuerpo. El exceso de la enzima conjugada es lavado y se añade el sustrato, el plato se incuba y se deja hasta que se lleve a cabo la hidrólisis del sustrato con la enzima. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG específicos en la muestra.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba

1. Micropozos recubiertos con anti-ANA. 12x8x1
2. Diluyente de la muestra. 1 Frasco
3. Calibrador. 1 vial. Listo para su uso
4. Control positivo. 1 vial. Listo para su uso
5. Control negativo. 1 vial. Listo para su uso
6. Conjugado enzimático. 1 frasco. Listo para su uso
7. Sustrato TMB. 1 frasco. Listo para su uso
8. Solución de paro. 1 frasco. Listo para su uso
9. Buffer concentrado de lavado 20x. 1 frasco

Materiales requeridos pero no abastecidos

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector de micro ELISA con lente a 450nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene el equipo entre 2° - 8°C. Mantenga las tiras de pocillos selladas en la bolsa de aluminio. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica. No exponer los reactivos a la luz del sol directa o a la luz durante el periodo de almacenaje.

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

1. Material potencialmente bio peligroso.
2. El suero y los calibradores son de origen humano han sido probados no reaccionaron para hepatitis B antígeno de superficie también para anticuerpo HIV. Aprobados por la FDA. Sin embargo estos métodos pueden no estar completamente garantizados para virus de hepatitis B HIV y otros agentes infecciosos ausentes, estos reactivos deben ser tratados con un nivel de bioseguridad nivel 2, recomendado por el centro de control nacional de enfermedades y en el manual para instituciones de salud bioseguridad microbiológica y laboratorios biomédicos 1984.
3. Para la obtención de mejores resultados se debe apegar estrictamente a este protocolo, en la precisión de pipeteo, el tiempo y temperatura indicadas son requerimientos esenciales.
4. No pipetear con la boca, no fumar, comer o beber en las áreas en donde los reactivos y muestras son manipulados.
5. Los componentes de este equipo deben ser utilizados en forma de unidad integral los reactivos de diferente lotes no deben ser mezclados.
6. El control tiene un conservador de azida de sodio, la azida de sodio puede ser muy reactivo en contacto con el cobre, plomo o explosivo en contacto con el metal.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolectar 1 muestra de sangre y separarla del suero.
2. La muestra puede ser refrigerada entre 2° - 8°C por un periodo de 7 días o congelar por un periodo de 6 meses.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Traer todas las muestras y reactivos para llevarlos a la temperatura ambiente (20 - 25°C) y mezclar gentilmente
2. Preparar solución buffer a 1X agregando el contenido de la botella de 25 ml que esta a 20X y llevarlos a 475 ml. de agua desionizada.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Favor de cortar el numero de tiras deseada.
2. El control negativo y positivo así como el calibrador están listos para usarse. Preparar una disolución de las muestras 1:21 agregando 10 µl de la muestra a 200 µl de diluyente de la muestra.
3. Dispensar 100µl de suero diluyente, calibrador y controles dentro de los pozos adecuados para el reactivo blanco, dispensar 100µl de muestra diluyente en la posición 1ª del micro lector, golpear levemente el pozo para remover las burbujas que se encuentran mezcladas con la solución, incubar por 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Remover el liquido de los pozos, repetir el tiempo de lavado por tres veces con la solución buffer.



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

5. Agregar 100 µl de la enzima conjugada a cada pozo, incubar por 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Remover la enzima conjugada de los pozos, repetir el tiempo de lavado en tres tiempos con la solución buffer.
7. Agregar 100 µl de TMB solución sustrato e incubarlo por 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Agregar 100 µl de solución paro.
9. Leer O.D. estable durante 15 minutos a 450nm usando un micro lector. En lectores duales se recomienda la referencia entre 600-650nm.

		ANA Screen ELISA			
		+	±	-	Total
ELISA Referencia	+	148	6	4	158
	±	2	0	0	2
	-	6	0	188	194
	Total	156	6	214	354

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

1. Compruebe factor calibrador (CF) el valor en la botella. Este valor puede variar entre lotes. Asegúrese de revisar el valor de cada kit.
2. Calcular el valor de corte: Calibrador D.O. x factor calibrador (CF).
3. Calcular el índice de Ab (anticuerpos) de cada determinación dividiendo la DO de cada muestra por el valor de corte.

Ejemplo de resultados típicos:

Calibrador media de DO = 0.8
 Calibrador Factor (CF) = 0.5
 Valor de corte = $0.8 \times 0.5 = 0.400$
 Control positivo O.D. = 1.2
 Índice de Ab = $1.2 / 0.4 = 3$
 Paciente muestra O.D. = 1.6
 Índice de Ab = $1.6 / 0.4 = 4.0$

CONTROL DE CALIDAD

La ejecución de la prueba puede ser considerada válida siempre los siguientes criterios:

1. Si la D.O. del calibrador es mayor que 0.250.
2. El índice de Ab para el control negativo debe ser inferior a 0.9.
3. El índice de Ab para el control positivo debe ser mayor que 1.2.

INTERPRETACIÓN

La siguiente pretende ser una guía para la interpretación de los resultados de las pruebas de ANA IgG, se alienta a cada laboratorio a establecer sus propios criterios de interpretación de la prueba basado en muestras de su población.

Índice de Interpretación de anticuerpos

- <0.9** No se detecte ningún anticuerpo Anti-ANA por ELISA.
- 0.9-1.1** Positivos en el límite. Las pruebas de control se recomienda si está clínicamente indicado.
- > 1.1** Se detectó anticuerpos Anti-ANA por ELISA.

LIMITANTES

Los resultados obtenidos en el ensayo de Anti ANA solo sirven como auxiliar en el diagnóstico de la enfermedad y solo debe ser interpretada en relación con el historial clínico y físico del paciente y corroborado con otro método de diagnóstico. Las muestras hemolizadas o lipemias pueden causar error.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

354 sueros de los pacientes fueron evaluados por ANA Screen ELISA y un método de referencia de ELISA. 148 sueros fueron positivos y 188 sueros fueron negativos por ambos métodos. El acuerdo entre los dos métodos fue del 95% (336/354). Los resultados se resumen a continuación:

PRECISIÓN

Intra-ensayo

Suero	Replicas	Media	SD	CV %
1	16	1.41	0.06	4.22
2	16	0.82	0.02	2.6
3	16	0.29	0.03	9.48

Inter-ensayo

Suero	Replicas	Media	SD	CV %
1	10	1.15	0.09	7.43
2	10	0.81	0.1	11.8
3	10	0.29	0.03	9.48

REFERENCIAS

1. Wong KH Lawton JW Cheng SK; Lee SS, Lau Cs Measurement of anti-dsDNA
2. Bootama H. Spronk Pe; ter borg EJ; Hummel Ej, de Boer G. Limburg Pc.
3. Takeuchi Y. Ishikawa O, Miyachi Y The Comparative study of anti-double stranded DNA antibody levels measured by radio inmunoassay and ELISA.
4. Batinić D; Do"zi cević M; krstulovi Bosnics D; sentić M, Markeljević J malenica B, Cike N.
5. Tomer y viegas OA, Swissa M, Koh SC Shoenfield

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:
CALBIOTECH, INC
10461 AUSTIN DRIVE,
SPRING VALLEY, CA 91978, U.S.A