



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

Para la determinación semicuantitativa de autoanticuerpos IgM antifosfolípidos

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de autoanticuerpos de tipo IgM antifosfolípidos en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Con la sigla «aPL» (anticuerpos antifosfolípidos) se identifican impropriamente anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos con carga negativa como la cardiolipina, la fosfatidilserina, el fosfatidilinositol, el ácido fosfatídico, la fosfatidilcolina, la lisofosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina. Según una acepción más correcta del término, por anticuerpos antifosfolípidos se entiende aquellos anticuerpos dirigidos contra el complejo entre β 2GPI y los fosfolípidos aniónicos capaces de unirse al quinto dominio de la β 2GPI. De estos, la cardiolipina es el fosfolípido más utilizado como antígeno para la determinación de aPL con el método ELISA.

La presencia de anticuerpos anticardiolipina en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y enfermedades relacionadas es típica de un síndrome antifosfolipídico secundario (APS). Por el contrario, los anticuerpos anticardiolipina en pacientes sin otras enfermedades autoinmunes caracterizan el síndrome antifosfolipídico primario. Numerosos estudios han demostrado que existe una correlación entre estos autoanticuerpos y una mayor incidencia de trombosis, trombocitopenia y abortos espontáneos (como consecuencia del infarto de la placenta).

Los anticuerpos antifosfolípidos se utilizan con menos frecuencia, aunque su empleo adicional puede aumentar la sensibilidad clínica en muestras de pacientes en que se sospecha la síndrome antifosfolipídica (APS), pero no pueden reemplazar la determinación de los autoanticuerpos anticardiolipina.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Phospholipid Screen-M está listo para su uso y sirve para la determinación de anticuerpos IgM antifosfolípidos en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

La prueba está basada en el principio ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas). El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido, las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno. Tras varios lavados destinados a eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado,

compuesto por anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas con peroxidasa de rábano. El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato para la peroxidasa. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero analizado.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos necesarios para realizar la prueba en equipos Chorus/Chorus TRIO.

Los resultados están expresados en unidades arbitrarias (UA/ml).

4. PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en pruebas con el marcado CE para la presencia de HBsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y, por consiguiente, deben desecharse conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Advertencias para la seguridad personal

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para limpiar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Una sola exposición a la solución de hipoclorito de sodio al 1 % de 30 minutos de duración debería bastar para garantizar una desinfección eficaz.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si hay ácido, no deberá utilizarse hipoclorito de sodio hasta que se haya secado la zona. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames accidentales, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) y usarlos en 60 minutos.

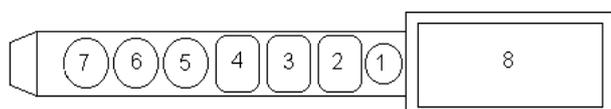
1. **Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Comprobar que el equipo Chorus/Chorus TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado a la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con complejos antígenos de fosfolípidos

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: 0,26 mg/ml de tetrametilbencidina y H₂O₂ al 0,01% estabilizados en 0,05 mol/l de tampón citrato (pH 3.8)

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución proteica salina con conservante

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpos monoclonales anti-IgM humanos marcados con peroxidasa, en solución tampón fosfato que contiene fenol al 0,05 % y Bronidox al 0,02 %.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente,

abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM antifosfolípidos y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,900 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM antifosfolípidos y conservante. Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF.] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF.] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF.] 83607
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio al 5%
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el suero de control (ver capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad aparece en cada componente y en la etiqueta del exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren o preparan:

DISPOSITIVOS	15 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	15 semanas a 2/8 °C
CONTROL POSITIVO	15 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20 °C.

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La inactivación por calor puede conducir a resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Dispensar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	130 µl/dispositivo

4. Introducir los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario volver a realizar la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, ponerse en contacto con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
 Fax: 0039 0577 366605
 e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo Chorus/Chorus TRIO calcula el resultado en función de un gráfico por lotes guardado en su memoria y proporciona el resultado en unidades arbitrarias (AU/ml).

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es ≥ 10 AU/ml
 NEGATIVO: cuando el resultado es < 10 AU/ml

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del paciente. Esta prueba no debe ser la única para determinar un diagnóstico clínico; debe evaluarse junto con los datos del historial clínico del paciente y otros exámenes diagnósticos.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3,0-80,0 AU/ml.

Para las muestras $> 80,0$ AU/ml repetir la prueba diluyéndolas previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

13. INTERVALOS DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 3,0 y 5,6 AU/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Fueron analizadas 2 muestras (1 Negativa y 1 Positiva) a las que se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide - 220 IU/ml
 Bilirrubina - 45 mg/dl
 Triglicéridos - 250 mg/dl
 Hemoglobina - 30 mg/ml

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero no altera el resultado de la prueba.

15. REACCIONES CRUZADAS

Se probaron 13 muestras, 6 positivas en CCP, 4 en RF-M y 3 en Treponema IgM.

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 96 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Total	10	86	96

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de diagnóstico):
 100,0 % CI_{95} %: 72,2 – 99,6.

Percent Negative Agreement (~Especificidad de diagnóstico):
 100,0 % CI_{95} %: 95,7 – 99,9.

El grado de concordancia entre ambos métodos es óptimo con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 1,0.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media AU/ml	CV %	Media AU/ml	CV %
1	39,1	4,3	33,3	13,0
2	14,1	8,0	20,3	12,0
3	3,8	3,4	3,3	11,5

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media AU/ml	CV %	Media AU/ml	CV %
1	32,0	12,4	32,5	14,5
2	22,2	10,7	21,4	13,5
3	3,8	3,2	3,7	21,1*

*Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los cambios (incluso a los más pequeños) cuando el valor promedio está cerca de cero.

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68: 215-222.
2. Pengo V. et al., *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, vol. 70 N.1:69-76.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

