



Instrucciones de uso

Válidas a partir de 22.11.2022

Anti- β_2 GP-I

REF 4041

Inmunoensayo enzimático para la determinación de anticuerpos IgG y/o IgM contra la β_2 -glicoproteína I (β_2 -GP I) en suero humano



GA Generic Assays GmbH
Ludwig-Erhard-Ring 3
15827 Blankenfelde-Mahlow OT Dahlewitz
Alemania

Teléfono: +49 33708 9286 0
Fax: +49 33708 4417 25

info@genericassays.com
www.genericassays.com



1 Uso previsto

El Anti- β_2 GP-I es un inmunoensayo cuantitativo para la determinación de anticuerpos IgG y/o IgM contra la β_2 -glicoproteína I (β_2 -GP I) en suero humano.

El Anti- β_2 GP-I está pensado como una ayuda en el diagnóstico del síndrome de anticuerpos anti-fosfolípidos (SAFL) en conjunción con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

El inmunoensayo está diseñado para uso manual por profesionales en el diagnóstico in vitro.

2 Relevancia del diagnóstico

El SAFL es un trastorno autoinmune que comprende síntomas clínicos como la trombosis arterial o venosa, la trombocitopenia y la pérdida fetal recurrente. El SAFL primario, al igual que el lupus eritematoso sistémico (LES), se caracteriza por la aparición de autoanticuerpos contra fosfolípidos cargados negativamente, incluidos los anticuerpos contra la cardiolipina. Aunque el significado y la relevancia patológica de los anticuerpos contra fosfolípidos aún no se han dilucidado por completo, la detección de dichos autoanticuerpos está ampliamente establecida y desempeña un papel importante en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes sistémicas.

Los anticuerpos anti-cardiolipina son los más utilizados para el diagnóstico del SAFL. Los anticuerpos contra los demás fosfolípidos son especialmente importantes para el diagnóstico diferencial, si los anticuerpos anti-cardiolipina son negativos. Los anticuerpos anti-fosfolípidos de los pacientes con SAFL se unen preferentemente a un complejo de fosfolípidos y al cofactor β_2 -glicoproteína I (β_2 -GPI, apolipoproteína H), mientras que los anticuerpos dirigidos únicamente contra los fosfolípidos también pueden detectarse en pacientes que padecen enfermedades infecciosas. La β_2 -GPI, una proteína sérica con un peso

molecular de 50 kDa, afecta a la agregación plaquetaria y a la coagulación. El quinto dominio de carga positiva de la β_2 -GPI interactúa con fosfolípidos de carga negativa o con las superficies de poliestireno activado de los pocillos de ELISA. Esta interacción da lugar a cambios conformacionales de la proteína y a la creación de nuevos epítomos, aparentemente reconocidos por autoanticuerpos fosfolípidos autoinmunes.

3 Principio de la prueba

El ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) es un inmunoensayo para la determinación de anticuerpos específicos. Las tiras de la placa de microtitulación están recubiertas con antígenos específicos de la prueba. Si los anticuerpos están presentes en la muestra del paciente, se unen a los antígenos. Un anticuerpo secundario conjugado con la enzima peroxidasa detecta el inmunocomplejo generado. Un sustrato incoloro se convierte en el producto coloreado. La intensidad de la señal del producto de la reacción es proporcional a la actividad del anticuerpo en la muestra. Después de parar de la reacción, la intensidad de la señal del producto de reacción se mide fotométricamente.

4 Componentes de la prueba

Componente	Descripción
Placa de microtitulación A Ag 96 1 pieza	12 tiras de microtitulación desprendibles (lista para usar), 8 pocillos por tira, cada pocillo recubierto con β_2 -glicoproteína I humana altamente purificada
Calibrador 0 - 4 CAL 5 x 1 mL, tapa blanca	Diluciones coloreadas de suero humano (listo para usar; contiene ProClin 950) Las actividades de los anticuerpos se indican en el certificado de CC.
Control negativo N CONTROL - 1 x 1 mL, tapa verde	Dilución coloreada de suero humano (listo para usar; contiene ProClin 950) La actividad de los anticuerpos se indica en el certificado de CC.
Control positivo P CONTROL + 1 x 1 mL, tapa roja	Dilución coloreada de suero humano (listo para usar; contiene ProClin 950) La actividad de los anticuerpos se indica en el certificado de CC.
Diluyente de la muestra C DIL 1 x 100 mL, tapa negra	Solución coloreada (listo para usar; contiene ProClin 950)
Tampón de lavado B BUF WASH 10x 1 x 100 mL, tapa blanca	Solución concentrada (10x; contiene ProClin 950)
Conjugado IgG D CONJ G 1 x 15 mL, tapa roja	Solución coloreada de anticuerpo policlonal anti-IgG humana conjugada con peroxidasa de rábano picante (listo para usar; contiene ProClin 950)
Conjugado IgM E CONJ M 1 x 15 mL, tapa verde	Solución coloreada de anticuerpo policlonal anti-IgM humana conjugada con peroxidasa de rábano picante (listo para usar; contiene ProClin 950)
Sustrato F SOLN TMB 1 x 15 mL, tapa azul	3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (listo para usar)

Solución de parada G H₂SO₄ 0.25M 1 x 15 mL, tapa amarilla	Ácido sulfúrico 0,25 M (lista para usar)
Película adhesiva 2 piezas	-
Certificado de CC 1 pieza	-
Instrucciones de uso 1 pieza	-

5 Materiales requeridos pero no proporcionados

- Equipos de laboratorio comunes
- Pipetas de precisión (5 - 1000 µL), pipetas multicanal (100 - 1000 µL) y puntas de pipeta desechables
- Cilindros graduados (100 - 1000 mL)
- Tubos de muestra para la preparación de diluciones
- Mezclador de vórtice u otros rotadores
- Lavador de placas de microtitulación o peine de lavado
- Lector de placas de microtitulación con filtros ópticos para 450 nm y 620 nm o 690 nm
- Papel absorbente
- Agua destilada o desionizada

6 Almacenamiento y estabilidad

Una vez recibidos, todos los componentes de la prueba deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C, preferiblemente en su empaque original. Si se almacenan correctamente en sus empaques originales, todos los componentes son estables hasta su fecha de caducidad. Todos los componentes son estables durante al menos 2 meses después de su apertura si se almacenan correctamente entre 2 °C y 8 °C.

7 Información general

Este producto es para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*. Las instrucciones de uso deben leerse cuidadosamente antes del uso. Estas son válidas solo para el presente producto con la composición dada y deben seguirse estrictamente para garantizar resultados fiables de las pruebas. Las desviaciones pueden conducir a resultados erróneos. Los componentes no deben cambiarse por reactivos de otras pruebas de diferentes lotes o fabricantes.

Debe evitarse la contaminación de los reactivos mediante el uso de técnicas asépticas al extraer alícuotas de los viales. Después de su uso, los viales de reactivos deben cerrarse herméticamente con sus correspondientes tapones.

La contaminación cruzada de las muestras o de los reactivos puede dar lugar a resultados inconsistentes y debe evitarse mediante el uso de técnicas de pipeteo consistentes.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a la luz intensa durante todo el procedimiento de ensayo y el almacenamiento.

Un lavado insuficiente dará lugar a una mala precisión y a elevadas señales de medición. Después de cada paso de lavado, cualquier líquido residual debe eliminarse por completo.

8 Preparación

8.1 Preparación de reactivos

Todos los componentes, incluida la placa de microtitulación, deben estar a temperatura ambiente (TA: 18 °C a 25 °C) antes de su uso durante al menos 30 min. Todos los componentes líquidos deben mezclarse suavemente para garantizar la homogeneidad.

8.1.1 Placa de microtitulación

La placa de microtitulación está sellada en una bolsa de aluminio. Las tiras reactivas no utilizadas deben almacenarse

refrigeradas y protegidas de la humedad con el desecante dentro de la bolsa de aluminio debidamente sellada. Las tiras reactivas bien selladas se pueden utilizar durante 8 semanas después de su apertura.

8.1.2 Calibradores

Los calibradores están listos para usar y no deben diluirse. Los calibradores deben utilizarse en cada prueba.

8.1.3 Controles

Los controles positivos y negativos están listos para usar y no deben diluirse. Los controles deben utilizarse en cada prueba. El laboratorio también puede validar sus propias muestras de control y usarlas alternativamente.

8.1.4 Diluyente de la muestra

El diluyente de la muestra está listo para usar.

8.1.5 Tampón de lavado

El tampón de lavado está concentrado y debe diluirse 1:10 con agua destilada antes del uso (por ejemplo, 100 mL + 900 mL). Debe prepararse una cantidad suficiente de solución de lavado. La solución de lavado preparada puede almacenarse entre 2 °C y 8 °C hasta por 30 días.

8.1.6 Conjugado

El conjugado está listo para usar y es estable hasta por 8 semanas después de su apertura si se almacena entre 2 °C y 8 °C.

8.1.7 Sustrato

El sustrato está listo para usar. Debe evitarse la exposición del sustrato a fuentes de luz intensa.

8.1.8 Solución de parada

La solución de parada está lista para usar.

8.2 Preparación de las muestras

8.2.1 Material de muestra

Se recomienda el uso de suero recién extraído de sangre por punción venosa. Debe evitarse el uso de muestras ictericas, lipémicas, hemolíticas o contaminadas con bacterias. Las sustancias insolubles deben eliminarse de la muestra mediante centrifugación. Las muestras no deben ser inactivadas térmicamente.

8.2.2 Dilución de la muestra

Las muestras deben diluirse 1:101 (por ejemplo, 10 µL + 1000 µL) con Diluyente de la muestras y mezclarse bien. Debe evitarse la formación de espuma.

8.2.3 Almacenamiento de muestras

Las muestras pueden conservarse entre 2 °C y 8 °C hasta por tres días. El almacenamiento a largo plazo requiere -20 °C. Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas. Para uso múltiple, las muestras deben dividirse en alícuotas y conservadas a -20 °C.

9 Rendimiento de la prueba

9.1 Esquema de pipeteo

El siguiente esquema de pipeteo es recomendado:

	1	2	3	4
A	CAL 0	Muestra 2		
B	CAL 1	Muestra 3		
C	CAL 2	Muestra 4		
D	CAL 3	Muestra 5		
E	CAL 4	...		
F	N	...		
G	P	...		
H	Muestra 1	...		

9.2 Procedimiento

Deben respetarse los tiempos y temperaturas de incubación indicados, y deben evitarse significativos cambios de tiempo durante el pipeteo de muestras y reactivos. La placa de microtitulación debe agitarse brevemente después de agregar los reactivos.

Paso	Descripción
1. Adición de calibradores, controles y muestras diluidas	Agregue 100 µL de calibradores y controles listos para usar y muestras diluidas por pocillo
2. Incubación	Cubra la placa e Incube durante 60 min a TA
3. Ciclos de lavados	Aspire la solución y lave 3 veces con 300 µL de solución de lavado con un tiempo de remojo de al menos 5 s cada uno; secar golpeando la placa de microtitulación sobre un papel absorbente para eliminar cualquier gota residual
4. Adición del conjugado	Agregue 100 µL de conjugado listo para usar en cada pocillo
5. Incubación	Cubra la placa e Incube durante 30 min a TA
6. Ciclos de lavados	Aspire la solución y lave 3 veces con 300 µL de solución de lavado con un tiempo de remojo de al menos 5 s cada uno; secar golpeando la placa de microtitulación sobre un papel absorbente para eliminar cualquier gota residual
7. Adición de sustrato	Agregue 100 µL de sustrato listo para usar en cada pocillo
8. Incubación	Cubra la placa e Incube durante 15 min en la oscuridad a TA
9. Adición de la solución de parada	Agregue 100 µL de solución de parada lista para usar en cada pocillo
10. Análisis	Lea la densidad óptica (DO) a 450 nm frente a 620 o 690 nm en 30 min después de detener la reacción

9.3 Automatización

El procesamiento automatizado de los inmunoensayos debe realizarse de forma análoga al uso manual y debe ser validado por el usuario.

10 Evaluación de la prueba

10.1 Trazabilidad metrológica

El inmunoensayo se calibra utilizando una muestra de referencia interna. Los resultados cuantitativos se expresan en U/mL.

10.2 Curva de calibración

Para generar una curva de calibración, las señales ópticas (densidad óptica, DO) de los calibradores se representan frente a sus actividades de anticuerpos y se correlacionan mediante un ajuste logístico de 4 parámetros (4 PL). Las actividades de anticuerpos de muestras desconocidas se pueden derivar directamente de sus señales ópticas mediante el uso de la curva de calibración generada.

10.3 Criterios de Validez

Las pruebas son válidas solo si cumplen con los siguientes criterios de validez:

- DO CAL 0 < CAL 1 < CAL 2 < CAL 3 < CAL 4;
- DO CAL 4 > 1,2;

- El control negativo debe ser valorado como negativo;
- El control positivo debe ser valorado como positivo y presentar una actividad de anticuerpos dentro del rango de validez indicado en el certificado de CC.

Si no se cumplen estos criterios, la prueba no es válida y debe repetirse.

10.4 Solución de problemas

En caso de una prueba no válida, se deben verificar las fechas de caducidad y las condiciones de almacenamiento, los tiempos y temperaturas de incubación y la calibración precisa de todos los instrumentos utilizados. Si no se pudo identificar el motivo de invalidez de la prueba, comuníquese con el proveedor o fabricante del producto.

10.5 Rangos de referencia

Los rangos de referencias son indicados continuación:

	Interpretación
Actividad de los anticuerpos < 10 U/mL	negativo
Actividad de los anticuerpos ≥ 10 U/mL	positivo

Como consecuencia de las diferentes seroprevalencias en cada región, cada laboratorio debe verificar sus rangos de referencia mediante su propio análisis y adaptarlos, si es necesario.

10.6 Interpretación de los resultados de las pruebas

Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos específicos. Un resultado negativo indica la ausencia de anticuerpos específicos, pero no excluye la posibilidad de una reacción autoinmune. En caso de un resultado incierto de la prueba, no es posible una evaluación confiable.

10.7 Limitaciones del método

La interpretación de los resultados de las pruebas debe considerarse siempre en combinación con el cuadro clínico del paciente. El diagnóstico no debe basarse en los resultados de un único método diagnóstico. Todos los hallazgos clínicos y de laboratorio deben evaluarse para establecer un diagnóstico. Para confirmarlo, se deben realizar más investigaciones.

11 Características de rendimiento

11.1 Características de rendimiento analítico

11.1.1 Precisión

La precisión de los resultados de la prueba se evaluó mediante la determinación de la variación intra- e inter-ensayo, mediante el análisis de múltiples muestras con diferentes actividades de anticuerpos.

IgG	Precisión intraensayo		Precisión interensayo	
	U/mL	CV (%)	U/mL	CV (%)
Muestra 1	48,1	5,1	51,0	3,6
Muestra 2	13,3	3,7	14,7	5,9
Muestra 3	5,5	3,2	6,4	7,1

IgM	Precisión intraensayo		Precisión interensayo	
	U/mL	CV (%)	U/mL	CV (%)
Muestra 1	142,3	6,8	160,5	9,6
Muestra 2	58,1	5,1	61,0	2,1
Muestra 3	9,2	3,9	10,0	4,2

11.1.2 Rango de medición

Se han observado exactitud, veracidad, precisión, linealidad y recuperación confiables de los resultados de las pruebas dentro del rango de medición del ensayo desde el LoQ hasta el calibrador superior en estudios exhaustivos. Las muestras con resultados por encima del calibrador superior deben informarse como >máx. Las muestras con resultados por debajo del LoQ deben informarse como <min. Si se observan resultados por encima del calibrador superior, las muestras pueden analizarse a una dilución más alta. La actividad de anticuerpos resultante debe multiplicarse por el factor de dilución adicional.

11.2 Características de rendimiento del diagnóstico

11.2.1 Sensibilidad y especificidad diagnóstica

La sensibilidad y la especificidad del inmunoensayo para los anticuerpos IgG se evaluaron mediante el análisis de 56 muestras de suero de pacientes con síndrome antifosfolípido y 156 muestras de donantes de sangre no seleccionados.

	Rendimiento del diagnóstico
Sensibilidad	73,8 %
Especificidad	96,2 %

La sensibilidad y la especificidad del inmunoensayo para los anticuerpos IgM se evaluaron mediante el análisis de 56 muestras de suero de pacientes con síndrome antifosfolípido y 139 muestras de donantes de sangre no seleccionados.

	Rendimiento del diagnóstico
Sensibilidad	39,3 %
Especificidad	97,1 %

12 Advertencias y precauciones

El producto está diseñado exclusivamente para uso en diagnóstico *in vitro* por personal calificado, autorizado y capacitado. Todos los componentes de la prueba y las muestras humanas deben manipularse con cuidado, ya que son potencialmente peligrosos. Se deben cumplir las buenas prácticas de laboratorio (BPL) y todas las reglamentaciones pertinentes.

En caso de que el producto esté dañado o la información del producto, incluido el etiquetado, sea errónea o incorrecta, póngase en contacto con el proveedor o fabricante.

Este producto contiene preparados de origen humano y/o animal. Cualquier material derivado de fluidos corporales humanos u órganos utilizados para la preparación de componentes, se analizó y resultó negativo para HBsAg (antígeno de la superficie del virus de la hepatitis B) y anticuerpos anti-VIH y anti-VHC. Sin embargo, todos los componentes y todas las muestras de pacientes deben manipularse como potencialmente peligrosos de acuerdo con las leyes nacionales y las directrices adecuadas sobre seguridad biológica.

Dado que el producto contiene materiales potencialmente peligrosos, deben seguirse las siguientes precauciones: No fume, coma ni beba mientras se manipula el material del kit o las muestras. Evite el contacto directo con el material del kit o las muestras utilizando guantes de protección, bata de laboratorio y gafas de seguridad. Nunca pipetee el material con la boca. Limpie los derrames rápidamente y lave bien la superficie afectada con un descontaminante. Lávese bien las manos después de su uso.

Algunos de los reactivos contienen ProClin (< 1,0 %) como conservante, pueden causar sensibilización de la piel (H317) y no deben ser ingeridos ni deben entrar en contacto con la piel o las mucosas (P280, P333+P313).

Debe observarse la información de la ficha de datos de seguridad sobre posibles peligros, medidas de primeros auxilios, medidas en caso de liberación involuntaria de grandes cantidades, manipulación y almacenamiento, equipo de protección personal, información sobre desecho, así como información sobre toxicología.

Cualquier incidente grave que haya ocurrido en relación con el producto se comunicará al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

13 Desecho

Para la descontaminación y desecho deben cumplirse las recomendaciones del CDC, así como las directrices y reglamentos

medioambientales locales y nacionales pertinentes. Las muestras, los materiales potencialmente contaminados y los residuos infecciosos deben descontaminarse, por ejemplo, mediante autoclave durante 20 min a 121 °C.

14 Referencias

- Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young GG, Loizou S and Hughes GRV: Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet 1983, 11, 1211.
- Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, DeBaets MHV, Breda-Vriesman PJC, Barbui T, Zwaal RFA, Bevers EM: Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein factor. Lancet 1990, 335, 1544 – 7.
- McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA: Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding factor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990 87, 4120 – 4.

15 Símbolos

	Fabricante
	Marcado CE de conformidad
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Identificador único del dispositivo
	Código de lote
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Consulte las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	No reutilizar
	Precaución
	Advertencia
	Riesgo biológico
	Mantenga alejado de la luz solar
	Placa de microtitulación
	Calibrador
	Control negativo
	Control positivo
	Diluyente de la muestra
	Conjugado
	Tampón de lavado
	Sustrato
	Solución de parada

16 Cambios

Cambios en las actuales instrucciones de uso	
Versión actual	006/11.2022
Resumen de los cambios	Cambios editoriales; se ha añadido el símbolo gráfico de advertencia de conformidad con el Reglamento de la UE 1272/2008