

### APLICACIÓN

El sistema de pruebas ELISA Cardiolipin IgA de ZEUS es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección semicuantitativa de autoanticuerpos circulantes de tipo IgA contra cardiolipina. Esta prueba es para uso diagnóstico *in vitro*.

### IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

Los autoanticuerpos contra fosfolípidos, y contra cardiolipina (aCL) en particular, se han asociado con la aparición de trombosis recurrente, trombocitopenia y abortos espontáneos (1,2,3). Se observa aCL en pacientes con lupus eritematoso sistémico u otras enfermedades del tejido conjuntivo (4), en individuos que reciben tratamiento con clorpromazina (5), y también en personas que no tienen enfermedades crónicas.

### FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas ELISA Cardiolipin IgA de ZEUS está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgA contra cardiolipina en suero humano. La creación de los pocillos sensibilizados de las tirillas de micropocillos de plástico se llevó a cabo mediante adsorción pasiva con antígeno de cardiolipina. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

1. Los sueros de la prueba (debidamente diluidos) se incuban en micropocillos revestidos de antígeno. Los anticuerpos contra antígeno específico que existan en la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. La placa se lava para eliminar el anticuerpo no fijado y otros componentes séricos.
2. Se agrega anti-IgA humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuba la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de cardiolipina inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no haya reaccionado.
3. Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

### COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

#### Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): controles, calibrador y diluyente de la muestra.**

PLATE	1.	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con el antígeno de cardiolipina de corazón bovino. Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
CONJ	2.	Conjugado: anti-IgA humana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Un vial de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
CONTROL +	3.	Control positivo (suero humano): un vial de 0,35 ml con tapón rojo.
CAL	4.	Calibrador (suero humano): un vial de 0,5 ml con tapón azul.
CONTROL -	5.	Control negativo (suero humano): un vial de 0,35 ml con tapón verde.
DIL SPE	6.	Diluyente de la muestra: un frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato. Solución de color verde, lista para su uso.
SOLN TMB	7.	TMB: un frasco de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
SOLN STOP	8.	Solución para detener la reacción: un frasco de 15 ml con tapón rojo con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
WASHBUF 10X	9.	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Un frasco de 100 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X y Tween 20 (solución transparente). <b>NOTA: la solución 1X tendrá un pH de 7,2 ± 0,2.</b>

#### NOTAS:

1. Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS: TMB, solución para detener la reacción y tampón de lavado.
2. El sistema de pruebas también contiene una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.

### PRECAUCIONES

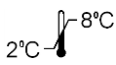
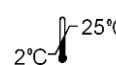
1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. Los micropocillos de la placa ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, considere las tirillas **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelas de manera acorde.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (6).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo.** Los reactivos no utilizados deben devolverse a temperatura de refrigeración inmediatamente después de su uso.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado o el sustrato. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente para muestras, los controles, y el calibrador contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha descrito la formación de azidas de plomo o cobre a partir de la azida de sodio en tuberías de laboratorio, lo cual puede causar explosiones al martillar las tuberías. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución para detener la reacción es TÓXICA por inhalación, por contacto con la piel o en caso de ingestión. Provoca quemaduras. En caso de accidente o si se siente mal, solicite asistencia médica inmediatamente.
9. La solución de TMB es NOCIVA. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
10. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.

- Limpie el fondo de la placa de todo residuo de líquido o huellas de los dedos que puedan alterar las lecturas de la densidad óptica (DO).
- La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
- No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
- La solución de TMB debe ser incolora o de color amarillo muy claro, verde muy claro o azul muy claro al utilizarla. La contaminación de TMB con el conjugado u otros oxidantes hará que la solución cambie de color prematuramente. No utilice la solución de TMB si tiene un color azul intenso.
- Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
- La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
- Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
- No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.
- Permita que las tirillas de micropocillos y su soporte alcancen la temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector, a fin de evitar la condensación en los micropocillos.
- Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
- Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
- No utilice la placa ELISA si la tirilla indicadora del sobre de desecante ha cambiado de azul a rosado.
- No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
- No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Lector de micropocillos ELISA capaz de leer a una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Se podrá usar un lector de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 - 650 nm). Es preferible la longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
- Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
- Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
- Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
- Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
- Agua destilada o desionizada.
- Probeta graduada de un litro.
- Pipetas serológicas.
- Puntas de pipeta desechables.
- Toallas de papel.
- Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
- Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)

### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Tirillas de micropocillos revestidos: vuelva a sellar inmediatamente las tirillas sobrantes con el secante y devuélvalas al lugar adecuado de almacenamiento. Una vez abiertas, las tirillas son estables durante 60 días siempre y cuando las tirillas indicadoras del envase del desecante permanezcan de color azul.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente para muestras sin abrir
	Solución para detener la reacción: 2 - 25°C
	Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C.
	Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

### RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

- ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
- Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
- Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (7, 8). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
- Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del laboratorio individual usar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (9).

### PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).
- Determine el número de micropocillos necesarios. Calcule seis determinaciones de control o calibrador (un blanco de reactivo, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por serie. En cada prueba se debe analizar un blanco de reactivo. Compruebe que las configuraciones de controles y calibrador sean correctas en los requisitos del programa y del lector. Devuelva las tirillas no usadas a la bolsa resellable con desecante, séllela y devuélvala a su almacenamiento entre 2 y 8 °C.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Blanco	Paciente 3
B	Control negativo	Paciente 4
C	Calibrador	etc.
D	Calibrador	
E	Calibrador	
F	Control positivo	
G	Paciente 1	
H	Paciente 2	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente para muestras) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente.
4. A cada micropocillo se añaden 100 µl de cada control diluido, calibrador y muestra de paciente. Compruebe que las muestras estén bien mezcladas. Utilice una punta de pipeta diferente para cada muestra.
5. Añada 100 µl de diluyente para muestras al micropocillo A1 como blanco de reactivo. Compruebe que la configuración del micropocillo del blanco de reactivo sea correcta en los requisitos del programa y del lector.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.
  - a. **Procedimiento de lavado manual:**
    1. Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
    2. Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
    3. Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.
    4. Agite la placa para eliminar la solución de lavado de todos los micropocillos. Invierta la placa sobre una toalla de papel y dele unos golpes secos para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos. Inspeccione visualmente la placa para asegurarse de que no queden residuos de la solución de lavado. Recoja la solución de lavado en un recipiente desechable y trátela con desinfectante al final de la jornada de trabajo.
  - b. **Procedimiento de lavado automático:**  
Si está utilizando un sistema automático de lavado, ajuste el volumen dispensado en 300-350 µl/micropocillo. Ajuste el ciclo de lavado para 5 lavados, sin interrupción entre los mismos. En caso necesario, se puede extraer la placa de micropocillos del lavador, invertirla sobre una toalla de papel y golpearla con firmeza para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos.
8. Agregue 100 µl de conjugado a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
9. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
10. Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
11. Agregue 100 µl de TMB a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
12. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
13. Detenga la reacción añadiendo 50 µl de la solución para detener la reacción a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregó la TMB. Las muestras positivas cambiarán de azul a amarillo. Después de agregar la solución para detener la reacción, dé unos cuantos golpes secos a la placa para asegurarse de que las muestras estén bien mezcladas.
14. Ajuste la longitud de onda del lector de micropocillos a 450 nm y mida la densidad óptica (DO) de cada micropocillo con respecto al blanco de reactivo. Lea la placa en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción.

#### **PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ABREVIADO**

1. Diluya el suero 1:21.
2. Añada la muestra diluida al micropocillo - 100 µl/micropocillo.
3. —————→ *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
4. Lave.
5. Añada el conjugado - 100 µl/micropocillo.
6. —————→ *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
7. Lave.
8. Añada la TMB - 100 µl/micropocillo.
9. —————→ *Incube durante 10 - 15 minutos.*
10. Añada la solución para detener la reacción - 50 µl/micropocillo - Mezcle.
11. LEA en el transcurso de 30 minutos.

#### **CONTROL DE CALIDAD**

1. El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
2. Calcule la media de los micropocillos de los tres calibradores. Si alguno de los tres valores difiere de la media más del 15%, deséchelo y calcule la media de los dos valores restantes.
3. El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

	<u>Intervalo de DO</u>
Control negativo	≤ 0,250
Calibrador	≥ 0,300
Control positivo	≥ 0,500

- a. El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≤ 0,9.
- b. El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≥ 1,25.
- c. Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
4. El control positivo sirve para verificar los fallos sustanciales de los reactivos, pero no asegura la precisión en el límite de referencia de la prueba.
5. Los controles positivo y negativo deben cumplir los siguientes criterios adicionales:
  - a. El control negativo debe ser <12 APL.
  - b. El control positivo debe ser >25 APL.
6. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.

#### **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

1. **Cálculos**
  - a. **Calibrador positivo**  
Tras realizar pruebas de muestras de sujetos normales y con enfermedad, el fabricante ha determinado un valor máximo de unidad normal que se ha relacionado con el calibrador. El calibrador permite calcular el valor de unidad de las muestras y corregir las pequeñas variaciones cotidianas en los resultados de las pruebas. El calibrador permite calcular el valor de unidad de las muestras y corregir las pequeñas variaciones cotidianas en los resultados de las pruebas. El valor unitario del calibrador (CV) se determina para cada lote de componentes del kit y está impreso en la lista de componentes que se encuentra en la caja del kit.
  - b. **Conversión de la densidad óptica a APL**  
La conversión de la DO a un valor en unidades (APL) puede representarse mediante la siguiente ecuación: Muestra analizada en APL = (A x B)/C. **Donde:** APL = Valor de unidad desconocido que se desea determinar; A = DO de la muestra analizada; B = Valor de unidad del calibrador (APL); y C = Media de la DO del calibrador.

**Ejemplo:** DO de la muestra analizada para cardiolipina = 0,946

DO del calibrador de cardiolipina = 0,435

Valor de unidad del calibrador de cardiolipina = 155 APL

**Muestra analizada APL = (0,946 x 155) / 0,435**

**Muestra analizada = 337 APL para anticardiolipina**

2. **Interpretaciones:** Las muestras de los pacientes se pueden interpretar como normales, dudosas o positivas, según se indica a continuación:

	APL
Normal	<12
Dudosa	12-15
Positiva	>15

Las muestras con cociente de DO en el margen de resultado dudoso (12-15) deberán volver a analizarse por duplicado. Documente cualesquiera dos de los tres resultados que concuerden. Repita la prueba de las muestras dudosas utilizando un procedimiento serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde.

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- No se debe emitir un diagnóstico que se base exclusivamente en los resultados del sistema de pruebas ELISA Cardiolipin IgA de ZEUS. Interprete los resultados de la prueba anticardiolipina de forma conjunta con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
- Las características de funcionamiento de este dispositivo no están establecidas en muestras lipémicas, hemolizadas e ictericas, por lo que no deben analizarse este tipo de muestras con esta prueba.
- Aunque la presencia de aCL se ha asociado con algunos tipos de LES (1 - 3), el significado clínico de aCL en ésta y otras enfermedades sigue siendo objeto de investigación.
- El rango de valores "normales" de aCL puede variar en cada grupo poblacional. Los rangos normales mostrados anteriormente son los recomendados por un grupo de investigadores y se apoyan en estudios de donantes de sangre aleatorios procedentes del nordeste de los Estados Unidos. Se aconseja que cada laboratorio establezca los rangos normales para sus regiones.
- La significación clínica de los resultados de una prueba dependerá de su relación con otros datos médicos del paciente. Base el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad en la evaluación de toda la información pertinente del paciente.

### RESULTADOS ESPERADOS

Se ha llevado a cabo un estudio en el que se evaluó la presencia de autoanticuerpos IgA contra cardiolipina en 113 sueros de donantes normales procedentes del nordeste de los Estados Unidos. De las 113 muestras estudiadas, 1/113 (0,9%) fue positiva, 1/113 (0,9%) fue dudosa y 111/113 (98%) ofrecieron resultados negativos para el anticuerpo IgA contra cardiolipina. En el mismo estudio, se evaluaron los autoanticuerpos IgA contra cardiolipina en un grupo de 28 muestras de LES no clasificadas. De las 28 muestras, 16/28 (57%) fueron positivas, 3/28 (11%) fueron dudosas y 9/28 (32%) ofrecieron resultados negativos.

### CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. **Estudios comparativos**

Se ha realizado un estudio comparativo interno para demostrar la equivalencia del sistema de pruebas ELISA Cardiolipin IgA de ZEUS con otro sistema de pruebas Cardiolipin IgA ELISA comercial. El funcionamiento se evaluó con 260 muestras, y los resultados se resumen a continuación en la tabla 1. Los resultados de la investigación se resumen en la tabla 2 siguiente.

**Tabla 1: Resumen de las muestras clínicas**

Número	Comentarios
105	Muestras de enfermedades obtenidas en grupos de reumatología de dos hospitales universitarios diferentes.
14	Muestras estudiadas con anterioridad y positivas para anticardiolipina.
28	Muestras de pacientes con LES no clasificadas.
113	Muestras de donantes normales obtenidas en el nordeste de los Estados Unidos.

**Tabla 2: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia**

		Sistema de pruebas ELISA Cardiolipin IgA de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
Sistema de pruebas Cardiolipin IgA comercial	Positivo	34	46	7	87
	Negativo	2	154	1	157
	Dudoso*	0	16	0	16
	Total	36	216	8	260

\* Las muestras dudosas se excluyeron de los cálculos.

Sensibilidad relativa =  $34/36 = 94,4\%$

Intervalo de confianza de 95%\*\* = de 87,0 a 100%

Especificidad relativa =  $154/200 = 77,0\%$

Intervalo de confianza de 95%\*\* = de 71,2 a 82,8%

Concordancia relativa =  $188/236 = 80,0\%$

Intervalo de confianza de 95%\*\* = de 74,5 a 85,0%

\*\* Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método exacto.

2. **Precisión y reproducibilidad:**

Para evaluar la reproducibilidad intraensayo e interensayos, se analizaron 6 muestras distintas. El análisis de cada una de las muestras se repitió ocho veces cada día durante tres días. Los resultados se utilizaron para calcular valores medios en unidades, desviaciones típicas y porcentaje de coeficiente de variación (CV). Dos de las muestras fueron positivas fuertes, dos fueron claramente negativas y dos dieron valores cercanos al límite de referencia del ensayo. Los resultados de este estudio se resumen a continuación.

**Tabla 3: ELISA Cardiolipin IgA de ZEUS; resultados del estudio de precisión**

Muestra	Reproducibilidad intraensayo									Reproducibilidad interensayos; Todos los días combinados		
	Día 1			Día 2			Día 3			Media (APL)	DE	% CV
	Media (APL)	DE	% CV	Media (APL)	DE	% CV	Media (APL)	DE	% CV			
1	302	18,3	6,1	338	22,6	6,7	266	11,7	4,4	302	34,6	11,5
2	154	13,9	9,0	192	8,1	4,2	158	12,4	7,8	168	20,6	12,2
3	82	6,3	7,6	88	5,6	6,4	84	5,9	7,0	85	6,1	7,2
4	59	5,5	9,2	62	7,1	11,5	55	5,6	10,2	59	6,6	11,2
5	4	0,3	8,1	6	3,2	50,8	3	0,8	28,9	4	2,4	56,2
6	5	0,5	8,7	8	0,9	12,0	5	2,2	43,5	6	1,8	29,8

3. **Reactividad cruzada:**

Para investigar la posibilidad de reacciones positivas debidas a reacciones cruzadas con otros anticuerpos, catorce muestras que reaccionaron con varios autoanticuerpos se analizaron con el sistema de pruebas anticardiolipina. Diez de las catorce muestras (10/14) (71,4%) ofrecieron resultados negativos de

actividad de anticuerpos de tipo IgA anticardiolipina, mientras que cuatro de las catorce (4/14) (28,6%) fueron positivas. Los resultados de este estudio indican que la interferencia potencial provocada por reactividad cruzada de alto grado con dichos autoanticuerpos es poco probable.

### REFERENCIAS

1. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S, Hughes GRV: Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* ii:1211-1214, 1983.
2. Hamsten A, Norberg R, Gjorkholm M, DeFaire U, Holm G: Antibodies to cardiolipin in young survivors of myocardial infarction: an association with recurrent cardiovascular events. *Lancet* i: 113-116, 1986.
3. Harris EN, Asherson RA, Gharavi AE, Morgan SH, Berue G, Hughes GRV: Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders: association with anticardiolipin antibody. *Br. J. Hematol.* 59: 231-234, 1985.
4. deBrum-Gernandes AJ, Cossermelli-Messina W, Bueno C, Santiago MB, Weidebach W, Cossermelli W, deOliveira RM: Anticardiolipin antibodies in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology* 8:484-488, 1989.
5. Canoso RT, deOliveira RM, Nixon RA: Neuroleptic-associated autoantibodies: a prevalence study. *Biol. Psychiatry* 27:863-870, 1990.
6. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. *Fed. Register* 56:64175-64182, 1991.
7. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
8. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
9. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4<sup>th</sup> Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



**ZEUS Scientific, Inc.**

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Opción 2

International: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Website: [www.zeusscientific.com](http://www.zeusscientific.com)

ZEUS ELISA y SAVe Diluent<sup>®</sup> son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.

Para Asistencia al cliente en EE. UU., comuníquese con su distribuidor local.

Para Asistencia técnica en EE. UU., comuníquese con ZEUS

Scientific: llame al número gratuito o escriba un e-mail

support@zeusscientific.com.

Para consultas a Asistencia al cliente y Asistencia técnica fuera de

EE. UU., comuníquese con su distribuidor local.

©2017 ZEUS Scientific, Inc. Todos los derechos reservados.

