

APLICACIÓN

El sistema de pruebas IFA Autoantibody Screen (AAS) Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS está diseñado para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos antinucleares, antimitocondriales, antimúsculo liso y anticélulas parietales mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta IFA. Esta prueba sirve de ayuda para determinar el lupus eritematoso sistémico (LES) y para diferenciar trastornos del tejido conectivo que son clínicamente similares. Esta prueba es para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS combina el sistema de pruebas IFA Mitochondrial Antibody de ZEUS y el sistema de pruebas IFA Smooth Muscle Antibody de ZEUS en un solo sistema, lo que le permite monitorizar cuatro anticuerpos primarios en una sola prueba. Este sistema de pruebas detectará simultáneamente los anticuerpos antinucleares, antimitocondriales, antimúsculo liso y anticélulas parietales. El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS está diseñado para su uso junto con los sistemas de prueba IFA de ZEUS específicos para AAN, AM y AML.

Varios investigadores (1 - 2) han adaptado la técnica IFA para las pruebas de anticuerpos **antinucleares** siguiendo los métodos básicos originalmente descritos por Coons (3). Este método ha sido ampliamente utilizado para detectar la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) en el suero de pacientes que padecen lupus eritematoso sistémico (LES) y otros trastornos del tejido conectivo clínicamente similares (4 - 8). Asimismo, los ANA pueden estar asociados a numerosos síndromes de lupus inducidos por fármacos (9 - 10), que imitan clínicamente la forma espontánea del LES. Los ANA están compuestos principalmente por anticuerpos IgG; sin embargo, también pueden detectarse ANA compuestos por IgA e IgM (11). Ahora se reconoce que pueden emplearse muchas fuentes de material nuclear como sustrato para las pruebas de ANA. Hay numerosos patrones diferentes de fluorescencia nuclear (12 - 19). Los distintos patrones y su base son los siguientes:

Homogéneo (continuo difuso): tinción difusa de todo el núcleo debida a los anticuerpos reactivos con los complejos ADN-nucleoproteína-histona (14 - 15).

Periférico (en anillo): tinción de la membrana nuclear debida principalmente a los anticuerpos dirigidos contra el ADN (6, 13, 16 y 17).

Punteado: puntos de tinción dispersos por todo el núcleo debida a los anticuerpos dirigidos contra los antígenos nucleares extraíbles, RNP o Sm (18, 19).

Nucleolar: tinción de las membranas nucleolares debido a los anticuerpos reactivos con los complejos ARN-nucleoproteína (13). Aunque el nivel de ANA puede no estar relacionado con la evolución clínica de un estado de enfermedad autoinmune en particular (6), los distintos patrones de tinción nuclear pueden estar asociados con estados de enfermedad específicos (6, 17 y 21 - 24).

Los anticuerpos mitocondriales (AM) se encuentran predominantemente en los pacientes (84% - 100%) con cirrosis biliar primaria (CBP) y solo ocasionalmente (10% o menos) en pacientes con hepatitis crónica activa, cirrosis criptogénica y otras enfermedades (25, 26 - 29). Por esta razón, se ha recomendado la aplicación de pruebas para la detección de AM como sustituto de la exploración quirúrgica con el fin de aportar pruebas de confirmación en casos de sospecha de diagnóstico de CBP a tenor de las características clínicas y analíticas o de los resultados histológicos (30 - 32). Esta recomendación está respaldada por la ausencia de AM en los casos de obstrucción biliar extrahepática (33). Si bien no se ha determinado la etiología exacta de la CBP, se ha demostrado la asociación de la CBP con ciertos anticuerpos antitejidos, en particular AM (29, 30 - 32). Se ha sugerido (25) que la CBP, la hepatitis crónica activa y la cirrosis criptogénica son diversas manifestaciones de un proceso autoinmune común. Esta conclusión se basa en la observación de que se pueden detectar autoanticuerpos similares en los sueros afectados por cualquiera de las tres enfermedades (25, 35). Informes recientes sugieren que el HBsAg puede ser el agente etiológico de la CBP (34) y posiblemente de otras enfermedades del hígado (35).

Los anticuerpos antimúsculo liso (AML) fueron descritos por primera vez por Johnson, y cols. (36) y se creía que eran específicos de la hepatitis crónica activa. Aunque los AML se encuentran en más de 50% de los pacientes con hepatitis crónica activa, también se han encontrado en asociación con la CBP (37), el asma (38) y ciertas neoplasias malignas (39). La hepatitis crónica activa se caracteriza por unos títulos de AML de 1:80 o superiores que persisten durante varios meses o años (29). Por su parte, los pacientes con hepatitis viral rara vez presentan títulos superiores a 1:40, y solamente presentan cantidades traza transitorias de AML. El antígeno específico para el AML parece ser la actina o sustancias similares a la actina que pueden estar presentes en las células hepáticas (40). Hasta este informe (40), era difícil asociar la presencia de AML con la enfermedad hepática crónica activa. Otro informe ha mostrado que el AML reacciona como autoanticuerpo frente a la actina (41), la sustancia contráctil de las plaquetas, los bordes en cepillo de las células epiteliales y otras sustancias (41).

Los anticuerpos anticélulas parietales (ACP) se observan en el 90% de los pacientes con anemia perniciosa. La prueba resulta útil para diferenciar la anemia de otras anemias macrocíticas. Los anticuerpos anticélulas parietales se observan en un alto porcentaje de casos de gastritis atrófica y se detectan en un porcentaje significativo de pacientes con anemia por deficiencia de hierro, enfermedad tiroidea, enfermedad idiopática de Addison y diabetes mellitus juvenil (42). Alrededor de un tercio de los pacientes con tiroiditis o enfermedad de Graves presentan anticuerpos anticélulas parietales (42, 43). En sujetos normales, los anticuerpos anticélulas parietales son poco frecuentes por debajo de los 20 años de edad. Se observa una creciente incidencia con la edad en mujeres y hombres, lo que refleja una mayor frecuencia de la gastritis atrófica (43). Los anticuerpos antifactor intrínseco son generalmente de la clase IgG y se encuentran en el 50 - 70% de los pacientes con anemia perniciosa (43). El anticuerpo antifactor intrínseco es poco frecuente en ausencia de anemia perniciosa.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS es un ensayo preestandarizado diseñado para la detección en sueros de pacientes de anticuerpos antinucleares, antimitocondriales, antimúsculo liso y anticélulas parietales utilizando un procedimiento de una sola prueba. La prueba incluye como sustrato cortes de tejidos de estómago y de riñón en cada pocillo de un portaobjetos de ocho pocillos. Seguidamente, los anticuerpos se diluyen con un conjugado de antiinmunoglobulina humana de cabra ajustada a la dilución óptima de uso con una mínima tinción de fondo. La reacción sucede en dos pasos:

1. En el paso uno se produce la interacción del anticuerpo presente en el suero del paciente con el antígeno del portaobjetos. En una muestra positiva, los anticuerpos presentes en el suero se unen al corte de tejido y permanecen unidos después del enjuague.
2. El segundo paso consiste en la reacción entre el conjugado y la reacción antígeno-anticuerpo que da lugar a una tinción de color verde manzana en una prueba positiva (consulte el Procedimiento de la prueba).

El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS se debe utilizar en pacientes con sospecha de padecer LES u otras enfermedades del tejido conectivo, enfermedades hepáticas autoinmunes, como la hepatitis crónica activa o la cirrosis biliar primaria, pacientes con anemia perniciosa, y pacientes con síntomas compatibles con una posible enfermedad autoinmune.

AAN: en una prueba positiva, los anticuerpos antinucleares presentes en el suero del paciente interactúan con los núcleos de las células de riñón y estómago. Tras la adición del conjugado marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), se produce una tinción de color verde manzana. Los anticuerpos antinucleares mostrarán un patrón homogéneo, en anillo, punteado o nucleolar.

AM: en una prueba positiva, el anticuerpo antimitocondrial presente en el suero de los pacientes interactúa con los antígenos mitocondriales localizados en el riñón proximal y, más intensamente, en las células parietales del epitelio tubular distal y gástricas (del estómago). Tras la adición del conjugado marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), se produce una tinción de color verde manzana dentro de las estructuras anteriores.

AML: en una prueba positiva, el anticuerpo antimúsculo liso presente en el suero del paciente interactúa con el antígeno de músculo liso en la banda muscular basal de la mucosa glandular del estómago y en el tejido del músculo liso de las paredes de los vasos sanguíneos. Con la adición del conjugado marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), una reacción positiva viene indicada por una tinción de color verde manzana dentro de la banda muscular y de las paredes de los vasos sanguíneos.

ACP: en una prueba positiva, el anticuerpo anticélulas parietales presente en el suero del paciente interactúa con las células parietales gástricas (del estómago) y no con el epitelio tubular proximal o distal del riñón. Tras la adición del conjugado marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), se produce una tinción de color verde manzana.

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: El conjugado y los controles contienen una combinación de Proclin (0,05% v/v) y Azida Sódica (<0,1% p/v) como conservantes. El diluyente SAVe Diluent® contiene azida sódica (<0,1% p/v) como conservante.**

• • •	1.	Portaobjetos de sustrato de tejido de riñón/estómago de rata: Diez portaobjetos de 8 pocillos con secante absorbente y bolsa desecante.
CONJ	2.	Conjugado: Antiinmunoglobulina humana de cabra (polivalente) marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC). Contiene tampón de fosfato con albúmina de suero bovino (BSA) y contratinción. Un frasco de 3.5mL, con tapa color ámbar. Listo para usar.
CONTROL + 1	3.	Control positivo de AAN (suero humano): dará lugar a una tinción homogénea del sustrato de riñón. Un vial de 0,5 ml con tapón rojo . Listo para usar.
CONTROL + 2	4.	Control positivo de AM (suero humano): dará lugar a una tinción mitocondrial del sustrato de riñón. Un vial de 0,5 ml con tapón azul . Listo para usar.
CONTROL + 3	5.	Control positivo de AML (suero humano): dará lugar a una tinción del sustrato de músculo liso de estómago. Un vial de 0,5 ml con tapón naranja . Listo para usar.
CONTROL + 4	6.	Control positivo de ACP (suero humano): dará lugar a una tinción del sustrato de estómago. Un vial de 0,5 ml con tapón púrpura . Listo para usar.
CONTROL -	7.	Control negativo (suero humano): no se producirá ningún tinción detectable de AAN, AM, AML o ACP en el sustrato de estómago o de riñón. Un vial de 0,5 ml con tapón verde . Listo para usar.
DIL SPE	8.	Diluyente SAVe Diluent®: un frasco de 30 ml con tapón verde que contiene solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. NOTA: El diluyente SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.
BUF PBS	9.	Solución salina tamponada con fosfato (PBS): pH 7,2 ± 0,2. Vacíe el contenido de cada paquete de tampón en un litro de agua destilada o desionizada. Mezcle hasta que todas las sales se hayan disueltas por completo. Cuatro paquetes, cantidad suficiente para preparar 4 litros.
MNTMED	10.	Medio de montaje (Glicerol tamponado): dos viales con punta de gotero de 3,0 ml, con tapa blanca.

NOTAS:

1. Los siguientes componentes no dependen del Número de Lote del Sistema de Prueba y se pueden usar indistintamente con los Sistemas de Prueba IFA de Zeus, en tanto los números de producto sean iguales: Diluyente SAVe Diluent® (N.º de producto: FA005CC), Medio de Montaje (N.º de producto: FA0009S) y PBS (N.º de producto: 0008S).
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* exclusivamente.
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 pocillos del portaobjetos no contienen organismos viables. No obstante, considere los portaobjetos **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelos 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 (20).
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.** Ponga los reactivos no utilizados en su recipiente original inmediatamente y siga los requisitos de almacenamiento.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Asegúrese de minimizar la cantidad de cualquier PBS residual mediante secado con secante antes de agregar el conjugado. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVe Diluent®, el conjugado y los controles contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha informado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las cañerías del laboratorio, lo que puede ocasionar explosiones al golpear con un martillo. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contienen azida de sodio. Este conservante puede ser tóxico si se ingiere.
8. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
9. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
10. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
11. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
12. Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
13. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
14. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.

- Para proteger a los pocillos y al secante de la condensación, deje que el paquete de portaobjetos se equilibre hasta alcanzar temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector.
- 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.
- 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.
- No aplique presión sobre el sobre de los portaobjetos. Esto puede dañar el sustrato.
- Los componentes de este Sistema de prueba están emparejados para proporcionar una sensibilidad y reproducibilidad óptimas. No se deben intercambiar con reactivos de otros fabricantes. Siga las instrucciones del prospecto del paquete cuidadosamente.
- Componentes sin abrir/abierto son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, siempre que se respeten estrictamente las condiciones de almacenamiento recomendadas. No utilizar después de la fecha de caducidad. No congelar.
- La contratinción de Azul de Evans es un material potencialmente carcinógeno. Si hay contacto con la piel, enjuague con agua. Elimínelo conforme a las regulaciones locales.
- No permita que los portaobjetos se sequen durante el procedimiento. Según las condiciones del laboratorio, puede ser necesario colocar los portaobjetos en una cámara húmeda durante las incubaciones.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipetas serológicas pequeñas, Pasteur, capilares o automáticas.
- Puntas de pipeta desechables.
- Tubos de ensayo pequeños, de 13 x 100 mm o similares.
- Gradillas para tubos de ensayo.
- Placa de tinción: Una placa de tinción grande con un conjunto de mezclado magnético pequeño proporciona un mecanismo ideal para lavar los portaobjetos entre los pasos de incubación.
- Cubreobjetos, de 24 x 60 mm, grosor N.º 1.
- Agua destilada o desionizada.
- Microscopio de fluorescencia debidamente equipado.
- Una probeta graduada de 1 litro.
- Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
- Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía doméstica - 0,5 % de hipoclorito de sodio).

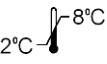
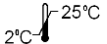
Se ha determinado que los siguientes sistemas de filtro o sus equivalentes, son satisfactorios para el uso de rutina con montajes de campo oscuro de iluminación incidente o transmitida:

Iluminación transmitida			
Fuente de iluminación: Vapor de mercurio 200 W o 50 W			
Filtro de excitación	Filtro de barrera	Filtro de supresión de rojo	
KP490	K510 o K530	BG38	
BG12	K510 o K530	BG38	
FITC	K520	BG38	
Fuente de iluminación: Tungsteno – Halógena 100 W			
KP490	K510 o K530	BG38	
Iluminación incidente			
Fuente de iluminación: Vapor de mercurio 200, 100, 50 W			
Filtro de excitación	Espejo dicróico	Filtro de barrera	Filtro de supresión de rojo
KP500	TK510	K510 o K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38
Fuente de iluminación: Tungsteno – Halógena 50 y 100 W			
KP500	TK510	K510 o K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38

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): Protección de los trabajadores de laboratorio de enfermedades infecciosas ("Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease"). 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 (44, 45). No se deben agregar 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 (46).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Sistema de prueba sin abrir
	Medio de montaje, conjugado, diluyente SAVe Diluent®, portaobjetos, controles positivos y negativos. PBS rehidratado (estable durante 30 días).
	Paquetes de solución salina tamponada con fosfato (PBS):

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Saque los portaobjetos del lugar de almacenamiento refrigerado y deje que se entibien hasta alcanzar temperatura ambiente (20 - 25 °C). Abra el sobre protector y saque los portaobjetos. **No aplique presión sobre los lados planos del sobre protector.**

- Identifique cada pocillo con el suero del paciente y los controles adecuados. **NOTA: los controles están diseñados para ser utilizados sin diluir.** Prepare una dilución 1:20 (por ejemplo: 10 µl de suero + 190 µl de diluyente SAVE Diluent® o PBS) de cada suero de paciente. **el diluyente SAVE Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.**

Opciones de dilución:

- Como opción, los usuarios pueden preparar diluciones de muestra iniciales utilizando PBS o Zorba-NS (Zorba-NS está disponible por separado Orden Número FA025 - 2, botellas de 30 ml).
 - Los usuarios pueden titular el control positivo hasta el punto final para que sirva como un control semicuantitativo (1+ mínimamente reactivo). En tales casos, el control debe diluirse dos veces en diluyente SAVE Diluent® o PBS. Cuando es evaluado en ZEUS Scientific, se establece una dilución de punto final y se imprime en el vial del control positivo (± una dilución). Debe tenerse en cuenta que debido a las variaciones dentro del laboratorio (equipos, etc.), cada laboratorio debe establecer su propio título de punto final esperado por cada lote de control positivo.
 - Cuando se titulan las muestras de pacientes, las diluciones iniciales deben prepararse en diluyente SAVE Diluent®, PBS o Zorba-NS, y todas las diluciones subsiguientes deben prepararse en diluyente SAVE Diluent® o PBS exclusivamente. Las titulaciones no deben prepararse en Zorba-NS.
- Con un dispensador adecuado (enumerado anteriormente), dispense 20 µl de cada control y cada suero de paciente diluido en los pocillos correspondientes.
 - Incuba los portaobjetos a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 30 minutos.
 - Con suavidad, enjuague los portaobjetos con PBS. **No dirija un chorro de PBS hacia el interior de los pocillos de prueba.**
 - Lave los portaobjetos durante dos intervalos de 5 minutos, cambiando el PBS entre lavados.
 - Saque los portaobjetos del PBS uno a uno. Invierta el portaobjeto y los pocillos clave sobre los orificios de los secantes provistos. Seque el portaobjeto pasando un paño absorbente por la parte posterior. **PRECAUCIÓN:** Coloque el secante y el portaobjeto sobre una superficie dura y plana. El secado sobre toallas de papel puede destruir la matriz del portaobjeto. **No permita que los portaobjetos se sequen durante el procedimiento de prueba.**
 - Agregue 20 µl de conjugado en cada pocillo.
 - Repita los pasos 4 a 7.
 - Aplique 3 - 5 gotas de medio de montaje a cada portaobjeto (entre los pocillos) y cubreobjetos. Examine los portaobjetos inmediatamente con un microscopio de fluorescencia adecuado.

NOTA: Si anticipa un retraso para examinar los portaobjetos, selle el cubreobjetos con esmalte de uñas transparente y almacene en un refrigerador. Se recomienda examinar los portaobjetos el mismo día en que se hace la prueba.

CONTROL DE CALIDAD

- Cada vez que se realiza un ensayo, se debe incluir un control positivo, un control negativo y un control de tampón.
- Se recomienda realizar una lectura de los controles positivo y negativo antes de evaluar los resultados de la prueba. Esto ayudará a establecer las referencias necesarias para interpretar la muestra. Si el aspecto de los controles no es el descrito a continuación, los resultados no son válidos.
 - Anticuerpo antinuclear:** el control positivo homogéneo se caracteriza por la tinción difusa de todo el núcleo en los cortes de riñón o estómago. El control negativo se caracteriza por la ausencia de fluorescencia específica y una tinción de fondo roja o verde apagado de todas las células debido a la contratinción de azul de Evans.
 - Anticuerpo antimitocondrial:** el control positivo se caracteriza por una tinción de color verde manzana en el epitelio tubular proximal y distal, y en las células parietales gástricas, con una intensidad de tinción de 2+ a 4+. El control negativo se caracteriza por la ausencia de tinción fluorescente de las células renales.
 - Anticuerpo antimúsculo liso:** el control positivo se caracteriza por una tinción fluorescente de color verde manzana en la banda muscular del sustrato de estómago. El control negativo se caracteriza por la ausencia de tinción fluorescente en la banda muscular de las células de estómago.
 - Anticuerpo anticélulas parietales:** el control positivo se caracteriza por una tinción granular de color verde manzana de las células parietales del estómago en las columnas que rodean la banda muscular lisa del estómago. El control negativo se caracteriza por la ausencia de tinción fluorescente en cualquiera de las células de estómago o de riñón.
- Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.

NOTAS:

- La intensidad de la fluorescencia observada puede variar con el microscopio y el sistema de filtro usados.
- Pueden quedar atrapados reactivos no específicos. Es importante lavar adecuadamente los portaobjetos para eliminar los resultados de falsos positivos.
- Se puede observar tinción no nuclear del sustrato de riñón y estómago en algunos sueros humanos. Comuníquese solamente los resultados de tinción nuclear y omita la tinción no nuclear.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Los títulos inferiores a 1:20 se consideran negativos.
- Prueba positiva: Una reacción positiva está dada por la presencia de cualquier patrón de tinción nuclear de color verde manzana observada en una dilución 1:20 basada en una escala de intensidad de tinción de 1+ a 4+. 1+ se considera una reacción débil y 4+ una reacción fuerte. Todos los sueros positivos a una dilución 1:20 deben titularse hasta dilución de punto final. Esto se logra realizando diluciones seriadas de 1:20, 1:40, 1:80, etc. de todos los positivos. El título de punto final es la dilución más alta que produce una reacción positiva de 1+ (consulte Fundamento de la prueba).
- Con este sustrato se pueden observar reacciones de anticuerpos antinucleares, antimitocondriales, antimúsculo liso y anticélulas parietales.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS es una herramienta para el diagnóstico de laboratorio, pero no es en sí una prueba diagnóstica. Se pueden encontrar resultados positivos en otras enfermedades distintas a las descritas en la sección «Importancia y aspectos generales» de este prospecto. Por tanto, es imperativo que los resultados positivos sean interpretados por una autoridad médica.

RESULTADOS ESPERADOS

El valor esperado en la población normal es negativo, o menor de 1:20. Sin embargo, es posible que personas aparentemente sanas entre la quinta y séptima década de su vida presenten resultados positivos (8).

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS se probó en paralelo frente a un procedimiento de referencia, según se indica a continuación:

- Se realizaron pruebas de ANA de rutina con ambos procedimientos en muestras de 434 pacientes. De estos 434 sueros, 116 fueron positivos con ambos procedimientos. El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS mostró un 97% de concordancia con respecto a resultados positivos y negativos, y un 100% de concordancia con respecto a los patrones de tinción. De las 29 discrepancias en título, el procedimiento de ZEUS fue una dilución inferior en 16 muestras, mientras que el procedimiento de referencia fue una dilución inferior en 13 muestras. De las 16 muestras con títulos más bajos mediante el procedimiento de ZEUS, todas arrojaron discrepancias de una dilución, y 13 de estas 16 fueron muestras negativas mediante el procedimiento de ZEUS y positivas a 1:20 mediante el procedimiento de referencia.

2. Se realizaron pruebas de AM de rutina con ambos procedimientos en muestras de 77 pacientes. De los 77 sueros, 15 fueron positivos con ambos procedimientos. El sistema de pruebas IFA AAS Rat Kidney/Stomach Tissue de ZEUS mostró un 100% de concordancia con respecto a resultados positivos y negativos. De los 15 sueros positivos para AM, 13 fueron obtenidos de pacientes con diagnóstico de cirrosis biliar primaria y dos positivos de título bajo fueron obtenidos de pacientes que estaban siendo objeto de una revisión médica regular en sus respectivos trabajos.
3. Se realizaron pruebas de AML de rutina con ambos procedimientos en muestras de 69 sueros de pacientes. De estos 69 sueros, 28 resultaron positivos con un título de 1:40 o mayor con ambos métodos y 41 fueron negativos. Se observaron 6 discrepancias entre los dos métodos con respecto al título. El procedimiento de ZEUS fue una dilución superior en cuatro muestras y una dilución inferior en dos muestras. No se observaron discrepancias con respecto al número de sueros negativos.

REFERENCIAS

1. Friou GJ: J. Clin. Invest. 36:890, 1957.
2. Friou GJ, Finch SC, Detre KD: J. Immuno. 80:324, 1958.
3. Coons AH, Creech H, Jones RN, *et al*: J. Immunol. 80:324, 1958.
4. Barnett EV: Mayo Clin. Proc. 44:645, 1969.
5. Burnham TK, Fine G, Neblett TR: Ann. Int. Med. 63:9, 1966.
6. Casals SP, Friou GJ, Meyers LL: Arthritis Rheum. 7:379, 1964.
7. Condemni JJ, Barnett EV, Atwater EC, *et al*: Arthritis Rheum. 8:1080, 1965.
8. Dorsch CA, Gibbs CV, Stevens MB, Shelman LE: Ann. Rheum. Dis. 28:313, 1979.
9. Dubois EL: J. Rheum. 2:204, 1975.
10. Alarcon-Segovia D, Fishbein E: J. Rheum. 2:167, 1975.
11. Barnett EV, North AF, Condemni JJ, Jacox RF, Vaughn JH: Ann. Intern. Med. 63:100, 1965.
12. Beck JS: Lancet. 1:1203, 1961.
13. Beck JS: Scot. Med. J. 8:373, 1963.
14. Lachman PJ, Junkel HG: Lancet. 2:436, 1961.
15. Friou GJ: Arthritis and Rheum. 7:161, 1964.
16. Anderson JR, Gray KG, Beck JS, *et al*: Ann. Rheum. Dis. 21:360, 1962.
17. Luciano A, Rothfield NF: Ann. Rheum. Dis. 32:337, 1973.
18. Beck JS: Lancet. 1:241, 1962.
19. Tan EM, Kunkel HG: J. Immunol. 96:464, 1966.
20. Burnham TK, Bank PW: J. Invest. Dermatol. 62:526, 1974.
21. Hall AP, Berdawi WA, Bayles TB, *et al*: N. Engl. J. Med. 263:769, 1960.
22. Pollack VE: N. Engl. J. Med. 271:165, 1964.
23. Raskin J: Arch. Derm. 89:569, 1964.
24. Beck JS, Anderson JR, Gray KG, Rowell NR: Lancet. 2:1188, 1963.
25. Doniach D, Walter JG, Roitt IM, *et al*: N. Engl. J. Med. 282:86, 1970.
26. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, *et al*: Lancet. 1:827, 1965.
27. Goudie RB, MacSween RNM, Goldberg DM: J. Clin. Pathol 19:527, 1966.
28. Kantor FS, Klatskin G: Trans. Assoc. Am. Physicians. 80:267, 1967.
29. Popper H, Schaffner F: Progress in Liver Diseases, Vol IV, Grune and Stratton, NY, pp 381-402, 1972.
30. Sherlock S: Diseases of the Liver & Biliary System, 4th Ed, Philadelphia. FA Davis Co., 1968, pp 311.
31. Klatskin G, Kantor FS: Ann. Int. Med. 77:533, 1972.
32. Paronetto F: Post Grad. Med. 53:156, 1973.
33. Richer F, Viallet A: Am. J. Dig. Dis. 19:740, 1974.
34. Kroltn K, Finlayson NDC, Jokelainen PT, *et al*: Lancet. 2:379, 1970.
35. Tourville DR, Solomon J, Wertlake PT: Bacteriolog. Proc., 1974.
36. Johnson GD, Holborow EJ, Glynn LE: Lancet. 2:878, 1965.
37. Holborow EJ: Br. Med. Bull. 28:142, 1972.
38. Warwick MT, Haslam P: Clin. Exp. Immunol. 731, 1980.
39. Whitehouse JM, Holborow EJ: Dr. Med. J. 2:511, 1971.
40. Farrow LJ, Holborow EJ, Brighton WD: Nature, 232:186, 1971.
41. Gabbian G, Ryan GB, Lamelin JP, *et al*: Am. J. Path. 72:473, 1973.
42. Irvine WJ: Recent Advances in Clinical Pathology, in Dyke Sc. Ced. Boston. Little Brown and Co., 1968, pp 497-580, 1974.
43. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
44. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
45. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
46. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th 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
 ZEUS IFA y SAVE Diluent® son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.
 Sistema de pruebas AAS Rat Kidney/Stomach Tissue

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.



(Fecha Rev.12/28/2017)