

COD 44609 48 determinaciones
COD 44572 12 x 4 determinaciones
CONSERVAR A 2-8°C
Reactivos para la determinación cualitativa de anticuerpos anti-células de los islotes nucleares Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico

ANTI-ISLET CELL ANTIBODIES (AICA)



ANTICUERPOS ANTI-CÉLULAS DE LOS ISLOTES (AICA)

Inmunofluorescencia indirecta
PANCREAS DE MONO

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los anticuerpos anti-células de los islotes pancreáticos (AICA) presentes en el suero humano, se unen al correspondiente antígeno de la sección de páncreas de mono. Los complejos antígeno-anticuerpos formados se ponen de manifiesto mediante la incubación con un anticuerpo contra las inmunoglobulinas humanas conjugado con fluoresceína, y se visualizan con la ayuda de un microscopio de fluorescencia¹.

CONTENIDO

COD 44609	
A. Portaobjetos	12 x 4 determinaciones
B. PBS (10x)	1 x 100 mL
C-. Control Negativo	1 x 0,3 mL
D. IgG FITC/Evans (M)	1 x 3,5 mL
E. Mounting Medium	1 x 3 mL
F. Papel secante	1 x 12

COD 44572	
A. Portaobjetos	12 x 4 determinaciones

COMPOSICIÓN

- A. Portaobjetos. Sección de páncreas de mono (MP) en cada pocillo.
- B. PBS (10x). Fosfato de sodio 112,5 mmol/L, fosfato de potasio 30 mmol/L, cloruro sódico 1,15 mol/L, azida de sodio 0,95 g/L, pH 7,2.
- C-. Control Negativo. Suero humano, azida de sodio 0,95 g/L.
- D. IgG FITC/Evans (M). Anticuerpos de cabra anti-inmunoglobulinas IgG humanas conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y adsorbidos con suero de mono. Azul de Evans 0,01 g/L y azida de sodio 0,95 g/L.
- E. Mounting Medium. Medio de Montaje: Mowiol 12%, Glicerol 30%, Tris 20 mmol/L, azida de sodio 0,95 g/L.
- F. Papel secante.

Los sueros humanos utilizados en la preparación del control negativo y el control positivo eran negativos para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, los controles deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Componentes líquidos: Presencia de partículas, turbidez.
- Portaobjetos: Roturas en el sobre contenedor, defectos macroscópicos como ralladuras o despegues en la sección de tejido.

REACTIVOS AUXILIARES

- B. PBS (10x).
- D. IgG FITC/Evans (M).
- E. Mounting Medium. Medio de Montaje.
- C+. Control Positivo AICA. Suero humano con anticuerpos anti-células de los islotes, azida de sodio 0,95 g/L.
- C-. Control Negativo.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

PBS: Efectuar una dilución 1/10 del Reactivo B con agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C, si se conserva a la temperatura recomendada, bien cerrado y se tiene cuidado para evitar contaminaciones durante su uso.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Ejerza las precauciones habituales requeridas para manipular todos los reactivos de laboratorio. Las fichas de seguridad están disponibles para el usuario bajo petición. La eliminación de todos los residuos debe ser conforme a las normativas locales.

EQUIPO ADICIONAL

- Cámara húmeda
- Cubeta de lavado
- Cubreobjetos de 24 x 60 mm
- Microscopio de fluorescencia equipado con filtros de excitación de 495 nm y de emisión de 525 nm para la visualización del FITC.

MUESTRAS

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. Estable una semana a 2-8°C.

Diluir las muestras 1/4 en PBS (ver Preparación de los Reactivos) antes del ensayo.

Para la titulación de una muestra positiva, realizar diluciones dobles en PBS a partir de la 1/4.

PROCEDIMIENTO

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
2. Depositar una gota (50 µL) de la muestra diluida o de los Controles en los pocillos del portaobjetos, procurando cubrirlo perfectamente (Nota 1).
3. Incubar el portaobjetos en cámara húmeda durante 30 minutos a temperatura ambiente (15-30°C) (Nota 2).
4. Eliminar las gotas de las muestras inclinando el portaobjetos y golpeándolo ligeramente. Evitar la mezcla de sueros.
5. Eliminar el suero remanente en el portaobjetos lavándolo con PBS (ver preparación del Reactivo). (Nota 3).
6. Lavar el portaobjetos sumergiéndolo en una cubeta con PBS durante 5 minutos. Cambiar el PBS y repetir el lavado.
7. Secar cuidadosamente el portaobjetos utilizando el papel secante suministrado. La sección de tejido debe permanecer siempre húmeda.
8. Depositar una gota de Reactivo D en cada pocillo. Colocar el portaobjetos en una cámara húmeda e incubar a temperatura ambiente (15-30°C) durante 30 minutos.
9. Lavar (ver paso 6) y secar (ver paso 7).
10. Depositar varias gotas de Reactivo E sobre el portaobjetos y colocar un cubreobjetos procurando evitar la formación de burbujas de aire.

LECTURA

Examinar el portaobjetos con un microscopio de fluorescencia (250-400x).

Es recomendable realizar la lectura de inmediato. Para realizar la lectura, seleccionar campos de observación de la zona interna de la sección de tejido. La intensidad de marcaje de la periferia no es representativa de la preparación. Si se observa marcaje intracelular de aspecto granular en las células de los islotes a la dilución recomendada se debe considerar como positivo anti-células de los islotes. Los sueros positivos pueden titularse.

Cuando no se observa marcaje específico, el resultado es negativo para los autoanticuerpos indicados.

CONTROL DE CALIDAD

El Control Positivo (C+) y el Control Negativo (C-) deben ser ensayados junto con las muestras de los pacientes para verificar la funcionalidad del procedimiento de ensayo.

El Control Positivo (C+) debe proporcionar el marcaje específico descrito en el apartado anterior.

El Control Negativo (C-) no debe proporcionar marcaje específico alguno.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

- El conjugado IgG FITC/Evans (M) está calibrado frente al Patrón Internacional de la OMS de anti-inmunoglobulinas IgG humanas de oveja conjugadas con FITC.
- La especificidad del Control Positivo AICA está verificada frente a un suero humano de referencia interno.
- Los resultados obtenidos con el kit AICA de BioSystems en un estudio comparativo con reactivos para la determinación de anticuerpos anti-GAD y anticuerpos anti-IA2 mostraron una buena concordancia. Los detalles de este estudio comparativo están disponibles bajo petición.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La inmunofluorescencia indirecta es el método convencional para la determinación de anticuerpos anti-células de los islotes pancreáticos (AICA). Estos anticuerpos están fuertemente asociados a la diabetes mellitus dependiente de insulina^{2,3}. El kit BioSystems de Anticuerpos anti-Células de los Islotes Pancreáticos (AICA) fue utilizado para determinar 128 sueros, 78 de pacientes con diabetes mellitus tipo I y 50 de donantes de banco de sangre. Los resultados mostraron una sensibilidad y especificidad diagnóstica del 65 y el 100%, respectivamente.

El diagnóstico clínico no debe basarse exclusivamente en el resultado de este ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

1. Evitar tocar la sección de tejido fijado en los pocillos durante todo el procedimiento.
2. Alternativamente, incubar el portaobjetos *overnight* a 2-8°C en cámara húmeda para mejorar la lectura de los resultados.
3. Utilizar un frasco lavador o pipeta para este lavado, evitando la posible contaminación con las muestras adyacentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Melnickoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Lipton R and LaPorte RE. Epidemiology of islet cell antibodies. Epidemiologic Reviews 1989; 11:182-203.
3. Hagogopian WA and Lernmark A. Islet Cell Autoantibodies. En: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.