



ANTI-THYROID ANTIBODIES (ATA)

COD 44150 16 determinaciones	COD 44550 48 determinaciones	COD 44556 96 determinaciones
COD 44551 12 x	COD 44555 12 x	
CONSERVAR A 2-8°C		
Reactivos para la determinación cualitativa de anticuerpos anti-tiroideos Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico		

ANTICUERPOS ANTI-TIROIDEOS (ATA)

Inmunofluorescencia Indirecta
TIROIDES DE MONO

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los anticuerpos anti-tiroideos (ATA) del suero se unen a sus correspondientes antígenos presentes en una sección de tiroides de mono. Una vez unidos, los anticuerpos se ponen de manifiesto mediante la incubación con un anticuerpo contra las inmunoglobulinas humanas conjugado con fluoresceína y se visualizan por microscopía de fluorescencia^{1,2}.

CONTENIDO

	COD 44150	COD 44550	COD 44556
A. Portaobjetos	4 x 4 pocillos	12 x 4 pocillos	12 x 8 pocillos
B. PBS (10x)	1 x 100 mL	1 x 100 mL	1 x 100 mL
C+. Control Positivo ATA	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
C-. Control Negativo	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
D. FITC/Evans (M)	1 x 2,5 mL	1 x 2,5 mL	2 x 2,5 mL
E. Mounting Medium	1 x 3 mL	1 x 3 mL	1 x 3 mL
F. Papel secante	1 x 4	1 x 12	1 x 12

	COD 44551	COD 44555
A. Portaobjetos	12 x 4 pocillos	12 x 8 pocillos

COMPOSICIÓN

- A. Portaobjetos:** Secciones de tiroides de mono (MT) 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 Positivo ATA:** Suero humano con anticuerpos anti-tiroideos (ATA) (Microsomal), azida de sodio 0,95 g/L.
- C-. Control Negativo:** Suero humano, azida de sodio 0,95 g/L.
- D. FITC/Evans (M):** Anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y adsorbidos con suero de mono, azul de Evans 0,01 g/L, azida de sodio 0,95 g/L.
- E. Mounting Medium.** Medio de Montaje: Glicerol 78%, fosfato de sodio 6 mmol/L, fosfato de potasio 1,6 mmol/L, cloruro de sodio 60 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

- Cod 44150, 44550 y 44556 no precisan de reactivos auxiliares.
- Cod 44551 y 44555 precisan de los siguientes reactivos auxiliares que pueden adquirirse de forma separada:
 - B. PBS (10x).**
 - D. FITC/Evans (M),** conjugado con contratinción de azul de Evans, o **FITC (M),** conjugado sin contratinción de azul de Evans.
 - E. Mounting Medium.** Medio de Montaje.
 - C -. Control Negativo.**

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

PBS: Efectuar una dilución 1/10 del Reactivo B con agua destilada. Estable 1 semana a 2-8°C.

Los demás componentes están listos para su uso.

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 1/10 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 1/10.

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).
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 2).
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 un marcaje en la superficie citoplasmática apical de los tirocitos que rodean los folículos de la tiroides a la concentración recomendada se debe considerar como positivo anti-mitosomal.

La fluorescencia se puede observar en el lumen de los folículos de la tiroides debido a los anticuerpos anti-tiroglobulinas.

Las muestras positivas pueden titularse. Se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

Cuando no se observa ninguno de los marcajes específicos descritos, el resultado es negativo para los autoanticuerpos indicados.

CONTROL DE CALIDAD

El Control Positivo (C+) y el Control Negativo (C-) suministrados con los kits cod 44150, cod 44550 y cod 44556 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

Los conjugados FITC/Evans (M) y FITC (M) están calibrados frente al Patrón Internacional de la OMS de anti-inmunoglobulinas humanas de oveja conjugadas con FITC.

La especificidad del Control Positivo ATA está verificada frente a un suero humano de referencia interno.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Los anticuerpos contra la peroxidasa de tiroides humana están presentes en pacientes con enfermedad de Hashimoto (90-100% de los pacientes), hipotiroidismo primario o mixedema (80%), enfermedad de Grave (50-80%), Diabetes Mellitus tipo I (40%) y mujeres embarazadas (14%)³. También se detectan, junto con anticuerpos anti-Tg, en otras enfermedades: bocio endémico, tiroiditis subaguda, enfermedad de Addison, autoinmunopatías poliendocrinas y en miembros de familias propensas a autoinmunidad específica de órganos. Sin embargo, pueden estar presentes en un 5-20% de personas sanas⁴.

Los resultados obtenidos con los anticuerpos anti-tiroideos BioSystems en un estudio comparativo no muestran diferencias sistemáticas significativas comparado con los reactivos de referencia. Los detalles de este estudio comparativo están disponibles bajo petición.

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. 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. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Balfour BM et al. Fluorescent antibody studies in human thyroiditis: autoantibodies to an antigen of the thyroid colloid distinct from thyroglobulin. Brit J Exp Pathol 1961;42:307-316
3. Rapoport B, McLachlan SM. Thyroid peroxidase autoantibodies. In: Peter JB, Shoenfeld Y. Autoantibodies. Elsevier. Amsterdam, 1996; 816-821
4. Herold KC, Sarne DH. Autoimmune endocrine disorders. In: Lahita RG ed. Textbook of the autoimmune diseases, 1st edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2000; 377-406