



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“NIVELES SÉRICOS DE AUTOANTICUERPOS ANTI-FOSFOLÍPIDOS
EN SUJETOS PEDIÁTRICOS CON LOS TRASTORNOS DEL
ESPECTRO AUTISTA Y SU CORRELACIÓN CON LOS NIVELES
SÉRICOS MATERNOS”.**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Autora: Villacís Villacís, Liliana Carolina

Tutora: Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

Ambato-Ecuador

Marzo, 2018

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el tema:

“NIVELES SÉRICOS DE AUTOANTICUERPOS ANTI-FOSFOLÍPIDOS EN SUJETOS PEDIÁTRICOS CON LOS TRASTORNOS DEL ESPECTRO AUTISTA Y SU CORRELACIÓN CON LOS NIVELES SÉRICOS MATERNOs”, de Villacís Villacís Liliana Carolina, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Diciembre del 2017

LA TUTORA

.....

Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Trabajo de Investigación:

“NIVELES SÉRICOS DE AUTOANTICUERPOS ANTI-FOSFOLÍPIDOS EN SUJETOS PEDIÁTRICOS CON LOS TRASTORNOS DEL ESPECTRO AUTISTA Y SU CORRELACIÓN CON LOS NIVELES SÉRICOS MATERNOS” como también resultados, conclusiones y análisis son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este Trabajo de Grado.

Ambato, Diciembre del 2017

LA AUTORA

.....
Villacís Villacís, Liliana Carolina

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Diciembre 2017

LA AUTORA

.....

Villacís Villacís, Liliana Carolina

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación, sobre el tema **“NIVELES SÉRICOS DE AUTOANTICUERPOS ANTI-FOSFOLÍPIDOS EN SUJETOS PEDIÁTRICOS CON LOS TRASTORNOS DEL ESPECTRO AUTISTA Y SU CORRELACIÓN CON LOS NIVELES SÉRICOS MATERNOS”** de Villacís Villacís Liliana Carolina, estudiante de la Carrera de Laboratorio clínico.

Ambato, Marzo 2018

Para constancia firman

.....

PRESIDENTE/A

.....

1er VOCAL

.....

2do VOCAL

DEDICATORIA

Dedico este Proyecto de Investigación, a mis padres, por haberme inculcado valores éticos y morales que han formado mi personalidad, por estar a mi lado ayudándome a superar todos los obstáculos que se han presentado, y sobre todo por ser un ejemplo de lucha para alcanzar mis sueños.

A mis hermanos Betty, José, Diego, Sandra, Paulina y Kleber por su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos, por siempre ayudarme seguir adelante ante cualquier dificultad, por su paciencia cariño y compañía.

A mis sobrinos Cinthia, Ariel e Ian por brindarme sus dulces sonrisas y su tierno afecto que me motivaron a seguir adelante cuando las cosas se tornaban difíciles.

Carolina

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme regalado la vida, por brindarme la fortaleza necesaria para alcanzar mis metas, por presentar en mi camino a personas extraordinarias que han sido mi apoyo fundamental de manera especial:

A mis padres, mis hermanos y mis sobrinos por estar siempre a mi lado en los momentos de alegría y tristeza siendo el pilar fundamental que siempre me motivo a continuar para alcanzar mis sueños.

A mi Tutora la Bqf. Martha Ramos por su tiempo y dedicación, por brindarme su apoyo para realizar mi proyecto de investigación, de la mejor manera.

Al MSc. Neomar Semprún por haberme encaminado sobre mi proyecto por tu tiempo y apoyo para llevarlo a cabo.

A mis amigos y amigas con quienes he pasado hermosas experiencias las que siempre quedaran guardadas en mi corazón.

A mis docentes quienes me brindaron sus conocimientos y experiencias a lo largo de toda mi carrera.

Carolina

ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
EL PROBLEMA	3
1.1 Tema.....	3
1.2 Planteamiento del problema	3
1.2.1 Formulación del problema.....	4
1.3 Justificación.....	4
1.4 Objetivos:	5
1.4.1. Objetivo General:	5
1.4.2. Objetivos Específicos:	5
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Estado del Arte.....	6
2.2 Fundamento Teórico.....	8
2.2.1. Inmunidad	8

2.2.2. Autoinmunidad.....	9
2.2.3. Anticuerpos antifosfolipídicos	10
2.2.3.1 Anticuerpos Anti Cardiopina	10
2.2.3.2 Anticuerpos Anti- Anti-β2 Glicoproteína	11
2.2.4 Madres con Síndrome Antifosfolpídico	12
2.2.5. Trastorno del Espectro Autista.....	13
2.2.5. Diagnóstico TEA DSM5TR.....	14
2.2.6 Anticuerpos Antifosfolípidos en Tea	16
2.3 Hipótesis o Supuestos	18
2.4 Señalamiento De Variables	18
CAPÍTULO III.....	19
MARCO METODOLÓGICO.....	19
3.1 Nivel y tipo de investigación.....	19
3.2 Selección del área o ámbito de estudio	20
3.3 Población.....	20
3.4 Criterios de inclusión y exclusión	20
3.5 Diseño muestral.....	21
3.6 Operacionalización de variables	22
3.7 Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información:	24
CAPÍTULO IV.....	27
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	27
DISCUSIÓN	32
CAPÍTULO V	34
CONCLUSIONES	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

BIBLIOGRAFÍA:	35
LINKOGRAFÍA	36
CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA	39
ANEXOS.....	40
ANEXO 1 : Aprobación de consejo directivo.....	41
ANEXO 2: Consentimiento informado.....	42
ANEXO 3: Historia clínica	43
ANEXO 4: Aprobación para realizar los estudios en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Salud.....	44
ANEXO N 5 Resultados del análisis de anti-cardiolipina y anti-β2 glicoproteína en sujetos pediátricos con TEA sus madres, sujetos pediátricos con desarrollo típico y sus madres.	45
ANEXO 6: Inserto de anti-cardiolipina y anti-β2 glicoproteína.....	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1 Valores Normales Anti-Cardiolipina	10
Cuadro N° 2 Valores Normales Anti-B2 Glicoproteína.....	11
Cuadro N° 3 Métodos para detector antifosfolipidos	11
Cuadro N° 4 Niveles séricos maternos de auto-anticuerpos anti-fosfolípidos.....	22
Cuadro N° 5 Niveles séricos de Autoanticuerpos Anti fosfolípidos en sujetos pediátricos con TEA.....	23

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en madres y sus hijos con TEA	27
Gráfico N° 2 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en madres y sus hijos con desarrollo típico.....	28
Gráfico N° 3 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en madres de niños con TEA, y madres con desarrollo típico.....	28
Gráfico N° 4 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en niños con TEA comparado con niños con desarrollo típico.....	29
Gráfico N° 5 Análisis de los valores de anticuerpos anti- β 2 glicoproteína en madres y sus hijos con TEA.....	29
Gráfico N° 6 Análisis de los valores de anticuerpos anti- β 2 glicoproteína en madres y sus hijos con desarrollo típico.....	30
Gráfico N° 7 Análisis de los valores de anticuerpos anti- β 2 glicoproteína en madres de niños con TEA y madres con desarrollo típico.....	30
Gráfico N° 8 Análisis de los valores de anticuerpos anti- β 2 glicoproteína en niños con TEA comparado con niños con desarrollo típico.....	31

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“NIVELES SÉRICOS DE AUTOANTICUERPOS ANTI-FOSFOLÍPIDOS EN SUJETOS PEDIÁTRICOS CON LOS TRASTORNOS DEL ESPECTRO AUTISTA Y SU CORRELACIÓN CON LOS NIVELES SÉRICOS MATERNOS”.

Autora: Villacís Villacís, Liliana Carolina

Tutora: Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

Fecha: Ambato, Noviembre del 2017

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de analizar los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-fosfolípidos en sujetos pediátricos con los Trastornos del Espectro Autista (TEA) y su correlación con los niveles séricos maternos, la finalidad fue relacionar si las madres con valores elevados de antifosfolípidos influyeron en que sus hijos presenten TEA.

La metodología se basó en un enfoque cuantitativo utilizando la investigación de campo, laboratorio y un nivel de investigación retrospectivo. Se trabajó con 80 pacientes de los cuales 30 sujetos pediátricos con edades comprendidas entre 3 y 17 años con Trastornos del Espectro Autista, sus madres, 10 sujetos con desarrollo típico y sus madres. Se evaluaron los niveles de anticuerpos circulantes anti-fosfolípidos (anti-aFL: anti-cardiolipina y anti-β2 glicoproteína); De acuerdo al análisis realizado de anti-cardiolipina en sujetos pediátricos con TEA tenemos que el 0.3 % presentan valores elevados, un porcentaje similar se encuentra dentro de los rangos normales y en el 99,4% se encuentran disminuidos. Los niveles de estos anticuerpos cuando se presentan en concentraciones bajas no tienen importancia clínica, solo se considera los valores elevados (1). En el análisis

realizado de anti- β 2 glicoproteína tenemos que el 10 % presentan valores elevados, el 30% se encuentran dentro de los rangos normales (Li=12 Ls=18) y el 60 % muestran niveles disminuidos; al igual que en anti-cardiolipina solo se consideran los valores elevados (1) . De acuerdo al analisis realizado de anti-cardiolipina en madres de niños con TEA tenemos que el 0,3% presentan valores elevados y el 99,7% presentan concentraciones disminuidas . En el analisis realizado de anti- β 2 glicoproteína en madres de niños con TEA tenemos que el 100% presentan niveles disminuidos .

El proyecto de investigación utilizo una estadística descriptiva mediante la cual se acepto la hipótesis nula indicando que no existe relación entre los niveles de anticuerpos anti-fosfolípidos con los niveles de sus madres.

PALABRAS CLAVE: TEA, ANTI-B2_GLICOPROTEÍNA, ANTI-CARDIOLIPINA, DESARROLLO_TÍPICO.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CAREER OF CLINICAL LABORATORY

"SERUM LEVELS OF ANTI-PHOSPHOLIPID AUTOANTIBODIES IN PEDIATRIC SUBJECTS WITH DISORDERS OF THE AUTISTA SPECTRUM AND ITS CORRELATION WITH THE MATERNAL SERUM LEVELS".

Author: Villacís Villacís, Liliana Carolina

Tutor: Bqf. Mg. Ramos Ramírez, Martha Cecilia

Date: Ambato, Noviembre del 2017

SUMMARY

The present investigation was carried out with the objective of analyzing serum levels of circulating anti-phospholipid autoantibodies in pediatric subjects with Autism Spectrum Disorders (ASD) and its correlation with maternal serum levels, the purpose was to relate whether mothers with high values of antiphospholipids influenced their children to have ASD.

The methodology was based on a quantitative approach using field research, laboratory and a level of retrospective research. We worked with 80 patients of which 30 pediatric subjects aged between 3 and 17 years with Autism Spectrum Disorders, their mothers, 10 subjects with typical development and their mothers. The levels of anti-phospholipid circulating antibodies (anti-aFL: anti-cardiolipin and anti- β 2 glycoprotein) were evaluated; According to the analysis made of anti-cardiolipin in pediatric subjects with ASD, we have that 0.3% have high values, a similar percentage is within the normal ranges and in 99.4% they are diminished. The levels of these antibodies when presented in low concentrations are not of clinical importance, only high values are considered (1). In the analysis of anti- β 2 glycoprotein we have that 10% have high values, 30% are within normal ranges

(Li = 12 Ls = 18) and 60% show decreased levels; as in anti-cardiolipin only high values are considered (1). According to the analysis carried out of anti-cardiolipin in mothers of children with ASD we have that 0.3% present high values and 99.7% have decreased concentrations. In the analysis carried out of anti- β 2 glycoprotein in mothers of children with ASD, we have that 100% have decreased levels.

The research project used a descriptive statistic by means of which the null hypothesis was accepted indicating that there is no relationship between the levels of anti-phospholipid antibodies with the levels of their mothers.

KEY WORDS: TEA, ANTI-B2_GLICOPROTEIN, ANTI-CARDIOLIPINE, TYPICAL_DEVELOPMENT.

INTRODUCCIÓN

El trastorno del espectro autista también conocido como TEA se considera como un trastorno de neurodesarrollo altamente heterogéneo caracterizado por alteraciones en los aspectos sociales, de conducta y cognitivos, años atrás solo se consideraba como un trastorno de comportamiento y sintomatología pero actualmente este concepto a cambiado considerablemente (2).

Existe la probabilidad que en la etiología de TEA se encuentren involucrados factores genéticos y ambientales, las evidencias crecientes sugieren, la presencia de respuestas autoinmunes incluidas los antimicrobianos que pueden producir TEA. (3).

El autismo actualmente ya no es considerado como una enfermedad sino un síndrome clínico, presente desde los primeros meses de vida del bebe y que incluye alteraciones en conducta, comunicación verbal y no verbal e interacción social y emocional anómala (4). Este es un concepto común, pero dentro de los TEA existen diferencias muy marcadas, presentando desde personas que no desarrollan el lenguaje y presentan discapacidades intelectuales, a individuos con una inteligencia superior a la media (5).

El síndrome antifosfolípídico fue establecido hace 20 años atrás por Hughes como un estado trombofílico que puede ser arterial o venoso que en ocasiones frecuentes provocan pérdidas fetales debido a la presencia de autoanticuerpos antifosfolípidos como el anticoagulante lúpico o anticardiolipina, que en algunas ocasiones puede presentarse acompañado de trombocitopenia.

Existen estudios donde se evaluaron a madres con síndrome antifosfolípídico y sus niños con el objetivo de determinar las anomalías que presentaron algunos de estos niños. La presencia de alteraciones en el neurodesarrollo como los Trastornos del Espectro Autista parece ser más importante en estos niños, aunque también existen otras complicaciones como infecciones, hiperactividad, trastorno de alimentación con retraso del lenguaje e hipotonía axial con retraso psicomotor, todas las patologías mencionadas se relacionaron con los niveles de

antifosfolípidos de las madres que se encontraban elevados, llegando a la conclusión que estos valores desencadenaron la presencia de las enfermedades antes mencionadas.(6)

La finalidad de la presente investigación fue relacionar los valores de antifosfolípidos de los sujetos pediátricos con TEA con los niveles séricos maternos para determinar si los niveles elevados pudieran ser la causa de TEA en sus hijos.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 Tema

Niveles séricos de autoanticuerpos anti-fosfolípidos en sujetos pediátricos con los Trastornos del Espectro Autista y su correlación con los niveles séricos maternos.

1.2 Planteamiento del problema

Los trastornos del espectro autista (TEA) son trastornos del neurodesarrollo altamente heterogéneo que se presentan cada vez más a menudo, caracterizado por la afectación de dos áreas del desarrollo: socio-comunicacional y un repertorio notablemente restringido de actividades e intereses como la conducta y el desenvolvimiento de las personas (2). Este trastorno afecta en la salud de los seres humanos, también su vida cotidiana ya que impiden que desarrollen sus actividades con normalidad, además afecta la economía de los mismos cuando adquieren medicamentos para sus tratamientos.

Uno de cada 160 niños presentan TEA a nivel mundial que tiene sus inicios en la infancia hasta los 5 años se mantiene en la adolescencia y la edad adulta, algunas de estas personas pueden llevar una vida independiente, pero existen otros casos en los que este trastorno se presenta acompañado de otras discapacidades y requieren de apoyo durante toda su vida (7).

En Latinoamérica afecta a uno de cada 68 nacimientos específicamente en Estados Unidos con gran aumento paulatino. Es alarmante que en la mayoría de los casos, las causas de TEA sean desconocidas, pero cada vez es más aceptado que no se define simplemente como un trastorno del comportamiento sino más bien como un trastorno biológico altamente complejo y heterogéneo (2).

En Ecuador la psicóloga Paola Zambrano, representante de la Comunidad de padres y profesionales que trabajan con personas con autismo considera que

solamente entre el 15 y 20 por ciento de los paciente que presentan este trastorno han sido diagnosticados por parte del sector público, el resto han sido evaluados por el sector privado donde trabajan con mayor interés (8).

1.2.1 Formulación del problema

A mayor concentración de niveles séricos de autoanticuerpos anti-fosfolípidos en las madres de sujetos pediátricos con TEA mayor posibilidad que sus hijos tengan estos autoanticuerpos elevados.

1.3 Justificación

Los trastornos del espectro autista (TEA) son trastornos del neurodesarrollo altamente heterogéneo caracterizado por la afectación de dos áreas del desarrollo: socio-comunicacional y un repertorio notablemente restringido de actividades en intereses. En la etiología de TEA se han involucrado diferentes factores biológicos, entre los cuales se han incluido factores genéticos, enfermedades infecciosas y complicaciones prenatales, perinatales y neonatales, así como alteraciones metabólicas y bioquímicas. Por lo tanto, en el estudio de las causas del autismo, se han desarrollado varias teorías que tratan de explicar el origen del mismo, en la actualidad se considera que su etiología es multifactorial y que pueden existir subgrupos clínicos cuya etiología pueda deberse a procesos auto inmunitarios (9) .

Según el Ministerio de Salud Pública Ecuador en el año 2016, habían 1258 personas con diagnóstico de autismo; no existe artículos publicados sobre este trastorno solo existen algunos trabajos de pregrado sobre Psicología y en el área de laboratorio clínico no existe ninguna investigación. La importancia de la presente investigación se basa en realizar un estudio sobre la concentración de los anticuerpos séricos circulantes anti-fosfolípidos (Anti-cardiolipina, Anti- β 2 microglobulina) en sujetos pediátricos con TEA para relacionar con los niveles que presentan sus madres; ya que existen estudios donde las madres que tienen niveles altos de fosfolípidos conocido como síndrome antifosfolipídico, se han vinculado que en algunos casos sus hijos presentaron TEA (3).

El presente proyecto fue factible por la colaboración de la fundación APADA que reunió a los participantes de la investigación, así como también por el apoyo de la Universidad Técnica de Ambato para procesar las muestras en el Laboratorio Clínico, además que creará un gran impacto sobre la sociedad ya que en nuestro país existen un porcentaje mínimo de estudios en personas que presentan autismo, patología que no es conocida por una gran parte de la sociedad ecuatoriana motivo por el cual se han generado algunos inconvenientes como rechazo y exclusión de niños con TEA. Los niños de diversas fundaciones de Ecuador y la sociedad ecuatoriana serían los beneficiarios de este estudio ya que se realizó las determinaciones de anti fosfolípidos tanto en niños con TEA como en sus madres de forma gratuita.

1.4 Objetivos:

1.4.1. Objetivo General:

Analizar los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-fosfolípidos en sujetos pediátricos con los Trastornos del Espectro Autista y su correlación con los niveles séricos maternos.

1.4.2. Objetivos Específicos:

- Determinar los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-fosfolípidos (anti-aFL: anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína) en sujetos pediátricos mayores a 3 años con los Trastornos del Espectro Autista (TEA), sujetos con desarrollo típico (DT).
- Identificar los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-aFL (anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína) en las madres de los sujetos pediátricos con TEA y DT.
- Correlacionar los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-aFL en sujetos pediátricos con los TEA y DT con los niveles séricos maternos anti-AFL.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del Arte

Abisor N. et al (10) realizaron una investigación sobre Trastornos del espectro autista en bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolípido donde su objetivo principal fue evaluar los resultados de los bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolípido primario y compararlos con los resultados de los bebés de madres con lupus eritematoso sistémico. El método de estudio fue un estudio retrospectivo de 2003 a 2010 que evaluó las características clínicas y el desarrollo psicomotor, así como los datos inmunológicos, de niños nacidos de madres con síndrome antifosfolípido (EPA) (grupo 1) y lupus eritematoso sistémico (grupo 2). Los resultados obtenidos fueron El grupo 1 consistió en 36 niños nacidos de madres (n = 26) con APS primaria. Los trastornos del espectro autista ocurrieron en 3 niños del grupo 1 y todos ellos tenían anticuerpos IgG anti-β2GP1 persistentes. El grupo 2 consistió en 12 niños nacidos de madres (n = 9) con lupus eritematoso. Tres niños experimentaron lupus neonatal cutáneo, pero no hubo trastornos del desarrollo neurológico. Comparando niños de los grupos 1 y 2, no se encontró diferencia significativa con respecto a los parámetros al nacer o durante el seguimiento. Los niños del grupo 2 tuvieron anticuerpos antinucleares con mayor frecuencia (p <0,05). La conclusión a la que llegaron los investigadores fue que los trastornos del espectro autista podrían observarse en bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolípido, pero no hay riesgo de trombosis (10)

Los investigadores F. Lageix et al (11), realizaron un estudio sobre Asociación entre la presencia de anticuerpos antifosfolípidos y la aparición de trastornos del espectro autista en la infancia, cuyo objetivo fue evaluar la asociación entre la

presencia de anticuerpos antifosfolípidos (APL) y la aparición de los TEA en la infancia, el método utilizado fue un estudio prospectivo monocéntrico de casos y controles de febrero de 2012 a agosto de 2014 comparando los anticuerpos APL de niños con TEA (grupo 1) y niños sin TEA (grupo 2). Los principales resultados que se obtuvieron fueron que el grupo 1 consistió en 44 niños con TEA definidos por criterios clínicos, genéticos, metabólicos y morfológicos. El grupo 2 consistió en 26 niños control sin TEA. Uno de los niños con TEA (2,3%) tenía anticuerpos persistentes anticardiolipina (ACL), cinco de ellos (11,4%) tenían anticuerpos persistentes APL, uno de ellos (2,3%) tenía anticuerpos anti-anexina V (AAV) y dos de ellos (%) tenían anticuerpos anti-fosfatidiletanolamina (APE). Dos de los niños control (7,7%) tenían anticuerpos persistentes APL. Ninguno de ellos tenía persistente ACL, AAV, o APE anticuerpos. Comparando los niños del grupo 1 y 2, no se encontró diferencia significativa entre la presencia y los títulos de anticuerpos convencionales y no convencionales ($P < 0,05$). Además, una madre de un niño autista (3%) tenía anticuerpos persistentes APL. La conclusión a la que llegaron los investigadores fue que los TEA no tuvieron relación significativa con la presencia de anticuerpos APL (11).

Los investigadores A, Mekinian et al (6) realizaron un estudio sobre un registro europeo de bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolipídico cuyo objetivo fue describir el resultado a largo plazo y el estado inmunológico de los niños nacidos de madres con síndrome antifosfolipídico, determinar los factores responsables de las anomalías de la niñez y correlacionar el perfil inmunológico del niño con sus madres. El método fue realizar un seguimiento prospectivo de una cohorte multicéntrica europea. El seguimiento consistió en el examen clínico, los datos de crecimiento, los hitos del desarrollo neurológico y la detección de anticuerpos antifosfolípidos (APL). Los niños fueron examinados a los 3, 9, 24 meses y 5 años. Los resultados obtenidos fueron que se analizaron 134 niños (sexo femenino en 65 casos, peso al nacer 3000 ± 500 g, altura 48 ± 3 cm). El 16% tuvo un parto prematuro (< 37 semanas, $n = 22$) y el 14% pesó menos de 2500 g al nacer ($n = 19$). Se observaron complicaciones neonatales en 18 casos (13%), con cinco infecciones (4%). Durante los 5 años de seguimiento, no se observó trombosis ni lupus eritematoso sistémico (LES). Cuatro niños presentaron

anormalidades de comportamiento, que consistieron en autismo, comportamiento hiperactivo, trastorno alimentario con retraso del lenguaje e hipotonía axial con retraso psicomotor. Al nacer, el anticoagulante lúpico estaba presente en cuatro (4%), anticuerpos IgA anticardiolipina (ACL) en 18 (16%), IgG / M anti-β2 glicoproteína-I (anti-β2GPI) en 16 (15%) y tres (3 %), respectivamente. La IgG y anti-β2GPI de ACL desaparecieron a los 6 meses en nueve (17%) y nueve (18%), mientras que la APL persistió en el 10% de los niños. El ACL y la IgG anti-β2GPI se correlacionaron con los anticuerpos de la misma madre antes de los 6 meses de edad ($p < 0,05$). La conclusión a la que llegaron los investigadores fue que a pesar de la presencia de LPA en niños, no se observaron trombosis o LES. La presencia de anomalías del neurodesarrollo parece ser más importante en estos niños y podría justificar el seguimiento a largo plazo (6).

2.2 Fundamento Teórico

2.2.1. Inmunidad

El ser humano es propenso a ser atacado por microorganismos patógenos externos o que incluso existen en nuestro cuerpo y causan enfermedades y en ocasiones provocan la muerte; para defenderlo existe el sistema inmune el cual está formado por un conjunto de tejidos y moléculas que cumple la función de proteger al organismo. Este sistema posee dos tipos de células los linfocitos T y B además de otras células y moléculas, los cuales son responsables de asegurar la supervivencia de los seres humanos, este proceso genético es conocido como recombinación somática. Este evento genético radica en la elección al azar de algunos genes para que estos produzcan una gran cantidad de células de defensa T y B con una capacidad de selectividad única (12).

Cuando un organismo patógeno ataca al ser humano la infección puede avanzar muy rápido, es aquí donde actúa el sistema inmunitario con sus células especializadas que provocan una respuesta para reconocer a los microorganismos

patógenos y eliminarlos (13); de esta manera podemos catalogar al sistema inmune como el conjunto de células que tienen la capacidad de diferenciar lo propio de lo extraño, así como también lo inofensivo de lo ofensivo (12).

2.2.1.1 Clasificación:

- **Inmunidad Innata**
- **Inmunidad Adquirida**

2.2.1.1.1 Inmunidad innata

También conocida como inespecífica o natural , es considerada como la protección inicial frente a las infecciones que se producen, está presente en los sujetos sanos lista para hacer frente a los microorganismos patógenos (14).

Dentro de los componentes de las barreras físicas innatas tenemos a las barreras naturales, factores humorales y celulares.

2.2.1.1.2 Inmunidad adquirida

Se la conoce también como inmunidad específica o adaptativa, se desarrolla de forma más lenta y brinda una respuesta más especializada y eficaz hacia el ataque de los microorganismos patógenos. Este tipo de inmunidad está formado por los linfocitos y sus productos, entre ellos también están los anticuerpos y las citoquinas; esta diseñada para proteger al organismo de los microorganismos ajenos incluyendo aquellos que resisten a la inmunidad innata (14).

2.2.2. Autoinmunidad

Autoinmunidad actualmente se conoce como la consecuencia de una activación del sistema inmune que ataca por error a sí mismo. La descripción de la presencia de auto antígenos, autoanticuerpos y células T auto reactivas, también se encuentran dentro del concepto de autoinmunidad, el cual lleva a la connotación de una respuesta inmune de tipo adquirida (15).

Las enfermedades autoinmunes son consideradas como afecciones crónicas que tienen su inicio por la pérdida de tolerancia inmunológica a auto antígenos, esta patología produce daño a tejidos y órganos debido a la respuesta de los auto-

antígenos que atacan por error a los antígenos propios, produciendo así la muerte celular (16). Estas enfermedades han creado un impacto significativo y desfavorable en la calidad de vida y la economía de las personas que la padecen así como también en sus familiares.

De acuerdo al punto de vista genético en las enfermedades autoinmunes se involucran múltiples genes en su patogenia esto quiere decir que estamos frente a una patología poligénica, todo lo contrario sucede con las enfermedades autoinflammatorias en las cuales está implicado un solo gen es decir que son patologías monogénicas (15).

2.2.3. Anticuerpos antifosfolípidicos

Los fosfolípidos son considerados como lípidos anfipáticos, que están presentes en todas las membranas celulares, en forma de bicapas lipídicas. Presentan una estructura similar a la de los triglicéridos y pertenecen al grupo de los lípidos (17).

2.2.3.1 Anticuerpos Anti Cardiolipina

Los anticuerpos anti- cardiolipina son parte de los anticuerpos anti-fosfolípidos los que son componentes de las membranas biológicas. La cardiolipina es conocida como un fosfolípido que se deriva del glicerol, estos anticuerpos se presentan generalmente en pacientes que con lupus eritematoso sistémico (LES) y en otras patologías relacionadas (18).

Cuadro N° 1 Valores Normales Anti-Cardiolipina

RANGO NORMAL	INDETERMINADO	RESULTADOS POSITIVOS
< 12 GPL/ml	12-18 GPL/ml	> 18 GPL/ml

(18)

2.2.3.2 Anticuerpos Anti- Anti-β2 Glicoproteína

Están dentro de los anticuerpos anti-fosfolípidos, es conocida también como apolipoproteína H, se asocia in vivo con lipoproteínas, plaquetas y fosfolípidos y al parecer inhibe la vía de coagulación intrínseca así como también la actividad de la protrombinasa y la agregación de plaquetas (19).

Cuadro N° 2 Valores Normales Anti-B2 Glicoproteína

RANGO NORMAL	INDETERMINADO	RESULTADOS POSITIVOS
< 12 U/ml	12-18 U/ml	> 18 U/ml

(19)

2.2.3.3 Determinación de anti-cardiolipina y anti-β2 glicoproteína

Cuadro N° 3 Métodos para detectar antifosfolípidos

Prueba	+pac.	Sens(%)	Esp(%)
Anticardiolipina IgG	9/9	100	55
APhL-ELISA KIT (Mezcla)	9/9	100	100
Beta-2 GP1 IgG	8/9	90	90
ACA IgG (HRP)	9/9	100	37
EL-ACA (isotipo)	9/9	100	55
Citometría de flujo (ACA)	9/9	100	55
Citometría de flujo (FS)	8/9	90	82

(20)

2.2.3.3.1 Principio del test

Las muestras de suero diluidas 1:101 se incuban en la microplaca revestida con el antígeno específico. Los anticuerpos de los pacientes, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por el lavado en el paso siguiente. Después, las inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa (conjugado) se incuban y reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras dentro de la microplaca (19). El conjugado no unido es retirado a través del lavado en el paso siguiente. La adición del substrato-TMB

genera una reacción colorimétrica (azul) enzimática que se detiene a través del ácido diluido (el color cambia a amarillo). La intensidad de formación de color a partir del cromógeno depende de la cantidad de conjugado unida al complejo antígeno- anticuerpo y es proporcional a la concentración inicial de los respectivos anticuerpos en la muestra del paciente (18).

2.2.3.4 Síndrome antifosfolipídico

El síndrome antifosfolipídico fue establecido hace 20 años atrás por Hughes como un estado trombofílico que puede ser arterial o venoso que en ocasiones frecuentes provocan pérdidas fetales debido a la presencia de autoanticuerpos antifosfolípidos como el anticoagulante lúpico o anticardiolipina, que en algunas ocasiones puede presentarse acompañado de trombocitopenia. Se estima que este síndrome tiene una prevalencia de 3-200 casos por cada 100.000 habitantes, pero en la mayoría de las ocasiones no son diagnosticados correctamente. Los sucesos trombóticos recurrentes pueden aparecer en cualquier lugar del árbol biliar pero las más afectadas y de mayor frecuencia son las venas profundas y las arterias cerebrales (21).

El síndrome antifosfolipídico tiene dos fases puede presentarse como primario o secundario dependiendo de su gravedad, se denomina primario si no se encuentra asociado a patologías autoinmunes, en el caso de ser secundario si se presenta asociada a enfermedades autoinmunes. Aparece con frecuencia en circunstancias como infección, intervención quirúrgica, algunos tratamientos médicos o la interrupción de algún medicamento anticoagulante (21).

2.2.4 Madres con Síndrome Antifosfolipídico

Existen estudios donde se evaluaron a madres con síndrome antifosfolipídico y sus niños con el objetivo de determinar las anomalías que presentaron algunos de estos niños. La presencia de alteraciones en el neurodesarrollo como los Trastornos del Espectro Autista parece ser más importante en estos niños, aunque también existen otras complicaciones como infecciones, hiperactividad, trastorno de alimentación con retraso del lenguaje e hipotonía axial con retraso psicomotor, todas las patologías mencionadas se relacionaron con los niveles de

antifosfolípidos de las madres que se encontraban elevados, llegando a la conclusión que estos valores desencadenaron la presencia de las enfermedades antes mencionadas (6).

El síndrome antifosfolípídico cuando se presenta en el embarazo tiene una estrecha relación con los abortos y pérdidas fetales frecuentes; además de esto se presentan otras patologías como preclamsia e insuficiencia placentaria. Las pérdidas fetales por el síndrome antifosfolípídico se debe al efecto trombofílico provocado por la presencia de anticuerpos y otros mecanismos que incluyen efectos directos sobre el trofoblasto y fenómenos inflamatorios, La combinación de un tratamiento de acuerdo a la patología y un arduo seguimiento pueden llevar al éxito del embarazo (22).

2.2.5. Trastorno del Espectro Autista

Etimológicamente el término autismo viene de la palabra griega *eaftismos*, que significa “encerrado en uno mismo” el término se introdujo en el campo de la psicopatología a través de la obra del psiquiatra suizo Eugen Bleuler denominada: *Dementia Praecox or the Group of Schizophrenias* (23). Este trastorno ha despertado interés en los profesionales de la salud desde su aparición pero todavía falta mucho por hacer para incluir a las personas que presentan TEA.

Existe la probabilidad que en la etiología de TEA se encuentren involucrados factores genéticos y ambientales, las evidencias crecientes sugieren, la presencia de respuestas autoinmunes incluidas los antimicrobianos que pueden producir TEA (3).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) aclara que no se han establecido las causas de TEA en forma clara, a pesar de esto existen investigaciones donde se muestra que existen genes y factores ambientales que pueden causar el desarrollo de este trastorno, en cuanto al tratamiento existen terapias que ayudan a controlar el comportamiento y el desarrollo de habilidades, así como también medicamentos que ayudan para intervenir algunos síntomas característicos de TEA (24).

Se han realizado varias investigaciones que han centrado su enfoque en la identificación de genes asociados con el autismo, los estudios que emergen en las últimas dos décadas sugieren que la disfunción inmune es un factor de riesgo viable que contribuye a los déficits de desarrollo neurológico observados en los trastornos del espectro autista. Además de esto es la heterogeneidad de este trastorno que ha traído a la luz mucho del pensamiento actual con respecto a los subfenotipos dentro de los TEA y cómo el sistema inmune se asocia a estas distinciones (25).

El autismo actualmente ya no es considerado como una enfermedad sino un síndrome clínico, presente desde los primeros meses de vida del bebe y que incluye alteraciones en conducta, comunicación verbal y no verbal e interacción social y emocional anómala (4). Este es un concepto común, pero dentro de los TEA existen diferencias muy marcadas, presentando desde personas que no desarrollan el lenguaje y presentan discapacidades intelectuales, a individuos con una inteligencia superior a la media (5).

2.2.5. Diagnóstico TEA DSM5TR

Según el criterio del DSM-V (26) , el diagnóstico para TEA es el siguiente:

A Deficiencias persistentes en la comunicación social y en la interacción social en diversos contextos, manifestado por lo siguiente, actualmente o por los antecedentes (los ejemplos son ilustrativos pero no exhaustivos):

1. Las deficiencias en la reciprocidad socioemocional varían, por ejemplo, desde un acercamiento social anormal y fracaso de la conversación normal en ambos sentidos, pasando por la disminución en intereses, emociones o afectos compartidos hasta el fracaso en iniciar o responder a interacciones sociales (26).
2. Las deficiencias en las conductas comunicativas no verbales utilizadas en la interacción social varían, por ejemplo, desde una comunicación verbal y no verbal poco integrada, pasando por anomalías del contacto

visual y del lenguaje corporal o deficiencias de la comprensión y el uso de gestos, hasta una falta total de expresión facial y de comunicación no verbal (26).

3. Las deficiencias en el desarrollo, mantenimiento y comprensión de las relaciones varían, por ejemplo, desde dificultades para ajustar el comportamiento en diversos contextos sociales, pasando por dificultades para combatir juegos imaginativos o para hacer amigos, hasta la ausencia de interés por otras personas (26).

Especificar la gravedad actual:

La gravedad se basa en el deterioros de la comunicación social y en patrones de comportamiento restringidos y repetitivos (26).

B . Patrones restrictivos y repetitivos de comportamiento, intereses o actividades, que se manifiestan en dos o más de los siguientes puntos, actualmente o por los antecedentes. (Los ejemplos son ilustrativos pero no exhaustivos) (26)

1. Movimientos, utilización de objetos o habla estereotipados o repetitivos (p. ej., estereotipias motoras simples, alineación de los juguetes o cambio de lugar de los objetos, ecolalia, frases, idiosincrásicas.) (26)
2. Insistencia en la monotonía, excesiva inflexibilidad de rutinas o patrones ritualizados de comportamiento verbal o no verbal (p. ej., gran angustia frente a cambios pequeños, dificultades con las transiciones, patrones de pensamiento rígidos, rituales de saludo, necesidad de tomar el mismo camino o de comer los mismos alimentos cada día) (26)
3. Intereses muy restringidos y fijos que son anormales en cuanto a su intensidad o foco de interés (p. ej., fuerte apego o preocupación por objetos inusuales, intereses excesivamente circunscritos o perseverantes) (26)
4. Hiper-o hiporreactividad a los estímulos sensoriales o interés inhabitual por aspectos sensoriales del entorno (p. ej., indiferencia aparente al dolor/temperatura, respuesta adversa a sonidos o texturas específicos, olfateo o palpación excesiva de objetos, fascinación visual por las luces o el movimiento) (26).

C . Los síntomas deben de estar presentes en las primeras fases del periodo de desarrollo (pero pueden no manifestarse totalmente hasta que la demanda social supera las capacidades limitadas, o pueden estar enmascaradas por estrategias aprendidas en fases posteriores de la vida) (26).

D . Los síntomas causan un deterioro clínicamente significativo en los social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento habitual (26).

E . Estas alteraciones no se explican mejor por la discapacidad intelectual (trastorno del desarrollo intelectual) o por el retraso global del desarrollo. La discapacidad intelectual y el trastorno del espectro autista con frecuencia coinciden; para hacer diagnósticos de comorbilidades de un trastorno del espectro autista y discapacidad intelectual, la comunicación social ha de estar por debajo de lo previsto para el nivel general de desarrollo(26).

Nota: A los pacientes con un diagnóstico bien establecido según el DSM-IV de trastorno autista, enfermedad de Asperger o trastorno generalizado del desarrollo no especificado de otro modo, se les aplicará el diagnóstico de trastorno del espectro autista. Los pacientes con deficiencias notables de la comunicación social, pero cuyos síntomas no cumplen los criterios de trastorno del espectro autista, deben ser evaluados para diagnosticar el trastorno de la comunicación social (pragmática) (26).

Hay que tomar en cuenta que la manera de diagnosticar el trastorno autista, en lo que se considera clínicamente autismo, y en cómo se reportan los casos del mismo pueden justificar parte del aumento en el número de casos reportados. Por lo tanto, en el estudio de las causas del TEA se han desarrollado varias teorías que tratan de explicar su origen. En la actualidad se considera que su causa es multifactorial y pueden existir algunos casos cuyo origen pueda deberse a un posible proceso auto inmunitario (26).

2.2.6 Anticuerpos Antifosfolípidos en Tea

Anticuerpos antifosfolípidos se cree que se producen a partir de dos factores genéticos y ambientales y han sido vinculados a un número de síntomas

neuropsiquiátricos de las afecciones cognitivas, la ansiedad y los comportamientos repetitivos(3).

En un estudio realizado en Paris, se ha investigado si se elevaron los niveles de anti-fosfolípidos antimicrobianos en el análisis transversal de los niños jóvenes con ASD (Autism Spectrum Disorder) en comparación con la edad de las personas con desarrollo típico. Se encontró que los niveles de anticuerpos anti-cardiolipina, β 2-glicoproteína 1 y anti-fosfoserina se elevaron en niños con autismo comparados con los controles; además el aumento en los niveles de anticuerpos fue asociado con más conductas negativas informadas por los padres. Determinando los posibles mecanismos patogénicos que pueden estar bajo las causas de la TEA (3).

2.3 Hipótesis o Supuestos

2.3.1 Hipótesis Alternativa (H1):

Existe relación entre la concentración niveles séricos de autoanticuerpos anti-fosfolípidos en sujetos pediátricos con los Trastornos del Espectro Autista y los niveles séricos maternos.

2.3.2 Hipótesis Nula (Ho):

No existe relación entre la concentración niveles séricos de autoanticuerpos anti-fosfolípidos en sujetos pediátricos con los Trastornos del Espectro Autista y los niveles séricos maternos.

2.4 Señalamiento De Variables

2.4.1 Variable Dependiente

Niveles séricos maternos de Auto-anticuerpos Anti-fosfolípidos.

2.4.2 Variable Independiente

Niveles séricos de Autoanticuerpos Anti fosfolípidos en sujetos pediátricos con TEA.

CAPÍTULO III.

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Nivel y tipo de investigación

3.1.1 Tipo de investigación

La investigación es exploratoria porque nos permitió acercarnos en una primera etapa al tema aunque no con conocimientos profundos sobre la realidad de la investigación (27), pero al conocer la realidad de las personas que presentan este trastorno nos encaminó a transformar este trabajo en la descripción de las características evidentes que presenta este trastorno, una vez que se describió en porcentaje de las personas que tenían TEA esta acción permitió involucrarnos en investigación descriptiva (27). La presente investigación también es explicativa debido a que se toma la relación de variables causa-efecto, teniendo como causa a los niveles séricos de autoanticuerpos antifosfolípidos elevados en las madres de sujetos pediátricos con TEA y como efecto sus hijos también los presentan elevados (27).

3.1.2 Enfoque

Se basa la tesis en el paradigma de investigación cuantitativo porque se obtuvo resultados numéricos del análisis de auto-anticuerpos antifosfolípidos realizado en la Universidad Técnica de Ambato; además que se tabuló los resultados en tablas estadísticas donde se definen porcentajes.

3.1.3 Modalidad de la investigación

3.1.3.1 De laboratorio: Porque se realizaron las determinaciones de anti-cardiolipina y anti- β_2 , glicoproteína en el laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato con el equipo Victo X con el método Elisa.

3.1.3.2 Bibliográfico-documental: Bibliográfico porque la investigación se basó en información científica de libros, revistas y artículos científicos tomados de internet.

Documental porque para desarrollar la investigación y cumplir con los objetivos planteados se consiguió información de las historias clínicas de las personas que formaron parte del estudio.

3.1.3.3 De campo: La presente investigación es de campo porque se tomaron las muestras en cada ciudad donde habitaban los participantes del estudio, estas muestras fueron procesadas en el laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato.

3.2 Selección del área o ámbito de estudio

3.2.1 Delimitación espacial: Se realizó el estudio en el laboratorio clínico de la Universidad Técnica de Ambato-Campus Ingahurco.

3.3 Población

Todos los participantes fueron contactados a través de la fundación APADA. Se les solicitó a todas las madres la firma del consentimiento libre informado y asentimiento informado, así como una historia clínica bien detallada (Anexo 1). La población de estudio estará comprendida con edades entre los 3 hasta los 17 años.

Se contó una muestra de 80 pacientes distribuidos de la siguiente manera:

- 30 sujetos pediátricos diagnosticados con TEA y sus madres.
(22 en la ciudad de Quito)
(6 en la ciudad de Riobamba)
(1 en la ciudad de Salcedo)
(1 en la ciudad de Ambato)
- 10 sujetos pediátricos con desarrollo típico y sus madres.

3.4 Criterios de inclusión y exclusión

3.4.1 Criterios de inclusión

- Representantes de los sujetos pediátricos que firmen el consentimiento informado.
- Sujetos pediátricos (3-7 años) diagnosticados con TEA.

- Sujetos pediátricos con desarrollo típico.

3.4.1 Criterios de exclusión

- Todo individuo sujeto a estudio que haya recibido tratamiento antimicrobiano y antiinflamatorio como: antibiótico, anti fúngicos, antivirales, antiparasitarios, AINES y esteroides tres (3) meses previos a la toma de muestra.
- Representantes de los sujetos pediátricos que se nieguen a firmar el consentimiento informado luego de haberse informado sobre la investigación.

3.5 Diseño muestral

El presente proyecto de investigación se trabajó con un muestreo no probabilístico intencional conformado por una población seleccionada por medio de los criterios de inclusión y exclusión.

3.6 Operacionalización de variables

3.6.1 Variable Independiente

Cuadro N° 4 Niveles séricos maternos de auto-anticuerpos anti-fosfolípidos

Conceptualización	Dimensiones	Indicaciones	Ítems básicos	Técnicas	Instrumentos
<p>Niveles séricos maternos <u>Síndrome</u> <u>antifosfolipídico</u></p> <p>El síndrome antifosfolipídico es una trombofilia adquirida autoinmune en la cual aparecen anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos aniónicos o proteínas que se unen a fosfolípidos.</p> <p>Los anticuerpos evaluados en el síndrome antifosfolipídico son: Anticardiolipina Anti-β2 microglobulina</p>	<p>Inmunidad</p> <p>Síndrome AFL</p> <p>Madres con síndrome antifosfolipídico.</p>	<p>Inmunidad innata Inmunidad adquirida</p> <p>Niveles de anti-cardiolipina (< 12 GPL/ml-18 GPL/ml) niveles de anti-β2 glicoproteína (< 12 U/ml – 18 GPL/ ml)</p> <p>Niveles de anti-cardiolipina (< 12 GPL/ml-18 GPL/ml) niveles de anti-β2 glicoproteína (< 12 U/ml – 18 GPL/ ml)</p>	<p>¿Qué sucede cuando las defensas bajan?</p> <p>¿Qué sucede con niveles de Anti-fosfolípidos elevados?</p> <p>¿Qué exámenes de sangre se realiza para determinar el síndrome antifosfolipídico?</p>	<p>Pruebas de laboratorio</p> <p>Entrevista a la madre</p> <p>Examen diagnóstico de Síndrome antifosfolipídico.</p>	<p>Ficha Resultados</p> <p>Cuestionario</p> <p>Ficha Resultados</p>

ELABORADO POR: Carolina Villacis

3 .6.2 Variable dependiente

Cuadro N° 5 Niveles séricos de Autoanticuerpos Anti fosfolípidos en sujetos pediátricos con TEA

Conceptualización	Dimensiones	Indicaciones	Ítems básicos	Técnicas	Instrumentos
<p>Niveles séricos de Autoanticuerpos Anti fosfolípidos en sujetos pediátricos con TEA</p> <p>Estudios recientes han destacado el papel de los anticuerpos Antifosfolípidos en la alteración de la función y los comportamientos como la cognición. La ansiedad y la hiperactividad.</p>	<p>TEA</p> <p>Determinación de anticuerpos Antifosfolípidos en sujetos pediátricos con TEA</p>	<p>Evaluación psicológica</p> <p>Niveles de anti-cardiolipina (< 12 GPL/ml-18 GPL/ml) niveles de anti-β2 glicoproteína (< 12 U/ml – 18 GPL/ ml)</p>	<p>¿Qué síntomas o signos presentan las personas con TEA?</p> <p>¿Cuál es el valor de antifosfolípidos que se considera como positivo?</p>	<p>Manual DSM 5</p> <p>Examen de laboratorio</p>	<p>Manual Cuestionario</p> <p>Resultados</p>

ELABORADO POR: Carolina Villacis

3.7 Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información:

La presente investigación se realizó en la fundación APADA del Ecuador en el periodo Marzo 2017-Febrero 2018 y para cumplir con los objetivos de la investigación se procedió de la siguiente manera:

- Se Dialogó con la presidenta de la fundación APADA dando a conocer el objetivo de la investigación y los beneficios que obtuvieron los participantes del estudio.
- Se seleccionó a los pacientes que formaron parte de la investigación mediante los criterios de inclusión y exclusión.
- Obtuvimos información necesaria a través de las historias clínicas de los sujetos de estudio.
- Solicitamos a los participantes de la investigación firmar un consentimiento y asentimiento informado y a las madres de los sujetos pediátricos un asentimiento informado.
- Se determinó los niveles séricos de auto-anticuerpos en sujetos pediátricos con TEA, sujetos controles y sus madres.
- Se correlacionó los niveles de antifosfolípidos de los sujetos pediátricos con TEA con los de sus madres.

3.8 Procedimiento

3.8.1 Recolección de las muestras

- Se obtuvo 5 ml de sangre periférica por punción venosa. El suero obtenido después de la retracción del coágulo, se alicuotó en viales de 1,5 ml y se preservara a -20°C hasta su procesamiento.

3.8.2 Tratamiento de los reactivos y las muestras

3.8.2.1 Diluya los reactivos concentrados:

- Se diluyó el tampón de muestra concentrado a 1:5 con agua destilada (p.e. 20 ml en 80 ml).
- Se diluyó el tampón de lavado concentrado a 1:50 con agua destilada (p.e. 20 ml en 980 ml).(18)

3.9.2.2 Muestras:

- Se diluyó las muestras de suero a 1:101 con tampón de muestra (1x) p.e. 1000 µl tampón de muestra (1x) + 10 µl suero. **3.9.2.3 Lavado:**
- Se preparó 20 ml de tampón de lavado diluido (1x) para 8 pocillos o 200 ml para 96 pocillos, 4 ml de concentrado en 196 ml de agua destilada.

3.9.2.4 Micro placas:

- Se calculó el número de pocillos necesarios para el ensayo.

3.9.3 ESQUEMA DE TRABAJO

1. Se pipeteó en los pocillos designados 100 µl de: control negativo (CN) y control positivo (CP), y Suero diluido de los pacientes (P1, P2...)
2. Se incubó durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.
3. Se lavó tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).
4. Se pipeteó 100 µl de conjugado en cada pocillo.
5. Se incubó durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.
6. Se lavó tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).
7. Se pipeteó 100 µl de substrato TMB en cada pocillo.
8. Se incubó durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F y evitando que reciba luz intensa.
9. Se pipeteó 100 µl de solución de paro en cada pocillo siguiendo el mismo orden que al pipetear el substrato.
10. Se incubó durante 5 minutos como mínimo.
11. Se agitó la placa suavemente durante 5 seg.
12. Se leyó la absorbancia a 450 nm durante los 30 minutos siguientes.

3.10 Aspectos éticos

A todos los participantes del proyecto de investigación se solicitó que llenen un consentimiento informado y en el caso de los sujetos pediátricos a sus representantes con la finalidad de confirmar su participación. Los resultados obtenidos se manejaron con absoluta responsabilidad y confidencialidad y fueron entregados a la directora de la fundación APADA para que puedan ser diagnosticadas todas las personas que formaron parte del estudio beneficiándolas con este proyecto.

En base a los cuatro principios de la Bioética se menciona lo siguiente:

3.10.1 Respeto de Autonomía

La autonomía es la elección libre que una persona puede tomar, se asocia con libertad de acción independiente y con una capacidad para actuar de forma libre sin ninguna presión, la autonomía de una persona se respeta cuando se reconoce su punto de vista y no se controla ni se limita a la persona para que las lleve a cabo (28).

3.10.2 No maleficencia

Se trata sobre la obligación de no hacer daño, de prevenirlo evitándolo o rechazándolo, no causar daños físicos como el dolor, discapacidad y muerte. Las reglas de este principio son:

1. No mate
2. No cause dolor o sufrimiento a otros
3. No incapacite a otros
4. NO ofenda a otros
5. No prive a otros de aquello que aprecian en la vida (29).

3.10.3 Beneficencia

Este principio hace referencia a los actos de buena voluntad amabilidad, amor o humanidad, se trata sobre ayudar a contribuir con el bienestar de las personas protege los derechos de los demás y previene el daño que puede sucederles (28).

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se realizaron análisis de antifosfolípidos (anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína) en sujetos pediátricos con TEA y sus madres, sujetos pediátricos con desarrollo típico y sus madres.

ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA

Al realizar la cuantificación de los valores séricos de anticuerpos anti-cardiolipina en las madres comparado con los niveles de sus hijos con TEA, se encontró que hay una correlación negativa muy baja (Pearson de -0,097). (Gráfico N°1)

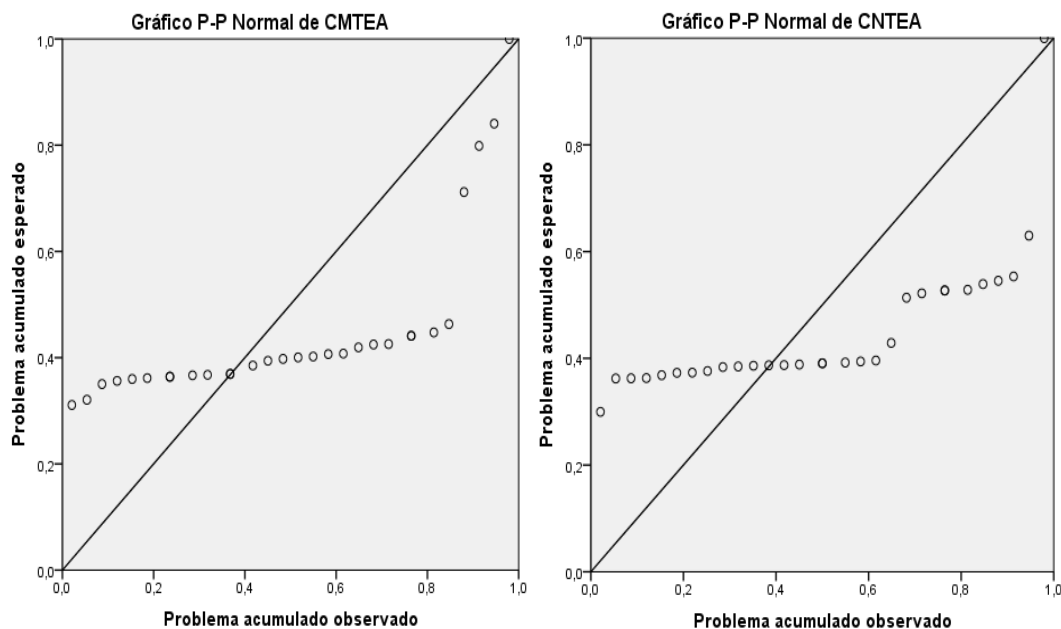


Gráfico N° 1 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en madres y sus hijos con TEA

La cuantificación de los valores de anti-cardiolipina en madres de niños con desarrollo típico comparado con los niveles de sus hijos se observa que existe una correlación positiva moderada (Pearson de 0,422). (Gráfico N°2)

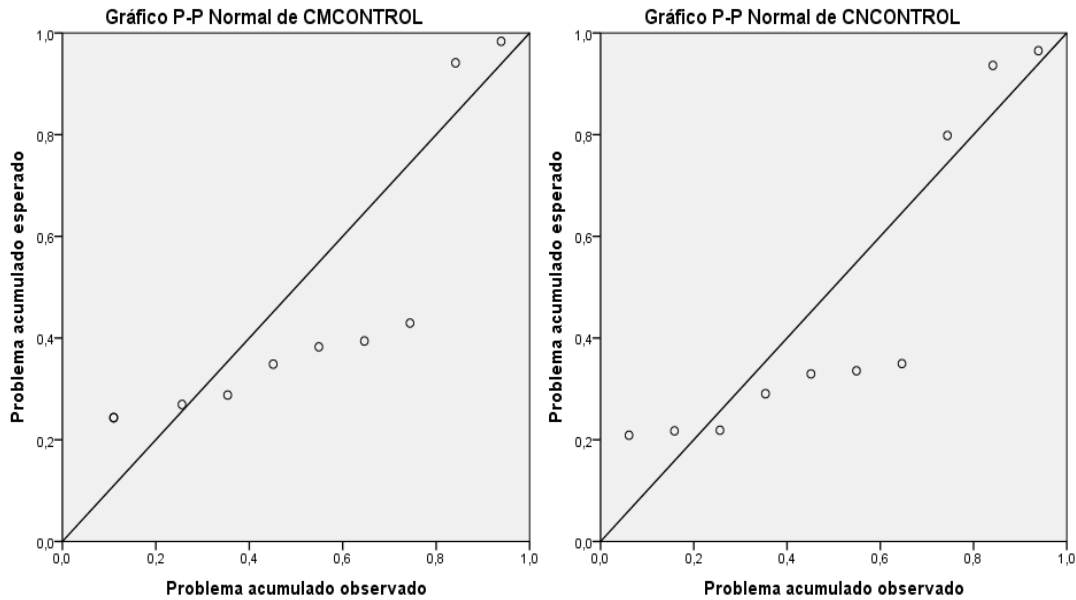


Gráfico N° 2 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en madres y sus hijos con desarrollo típico.

La determinación de anticuerpos de anti-cardiolipina en madres de niños con TEA comparado con los niveles de madres de sujetos pediátricos con desarrollo típico presentó una correlación negativa muy baja (Pearson de -0,081). (Gráfico N°3)

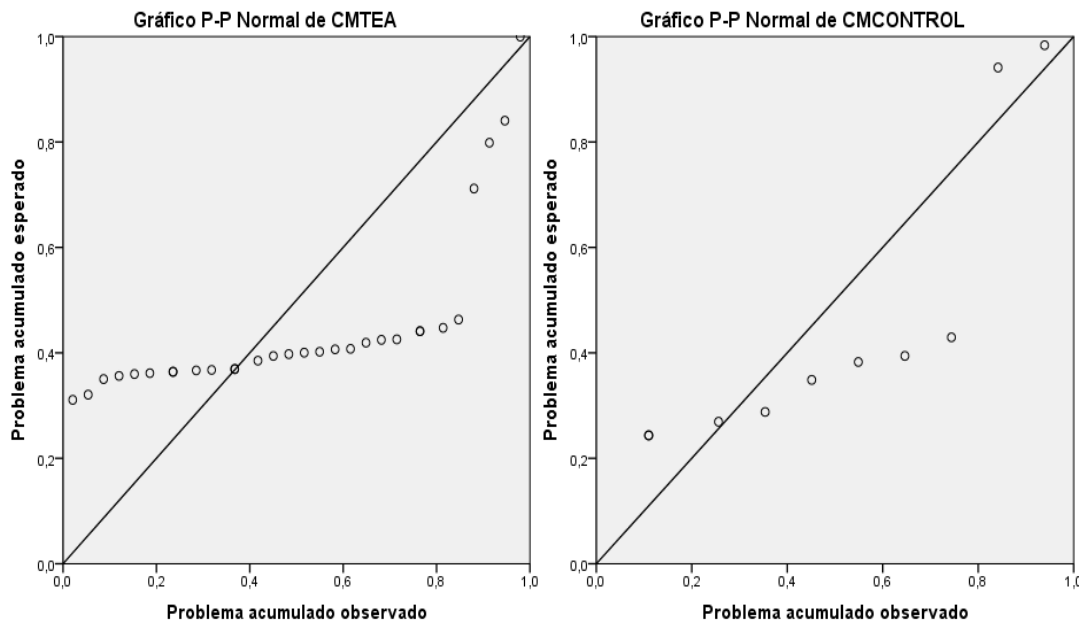


Gráfico N° 3 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en madres de niños con TEA, y madres con desarrollo típico.

En cuanto a los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en niños con TEA comparado con los niveles de sujetos pediátricos con desarrollo típico se observa que existe una correlación negativa baja (Pearson de -0,276). Gráfico N°4

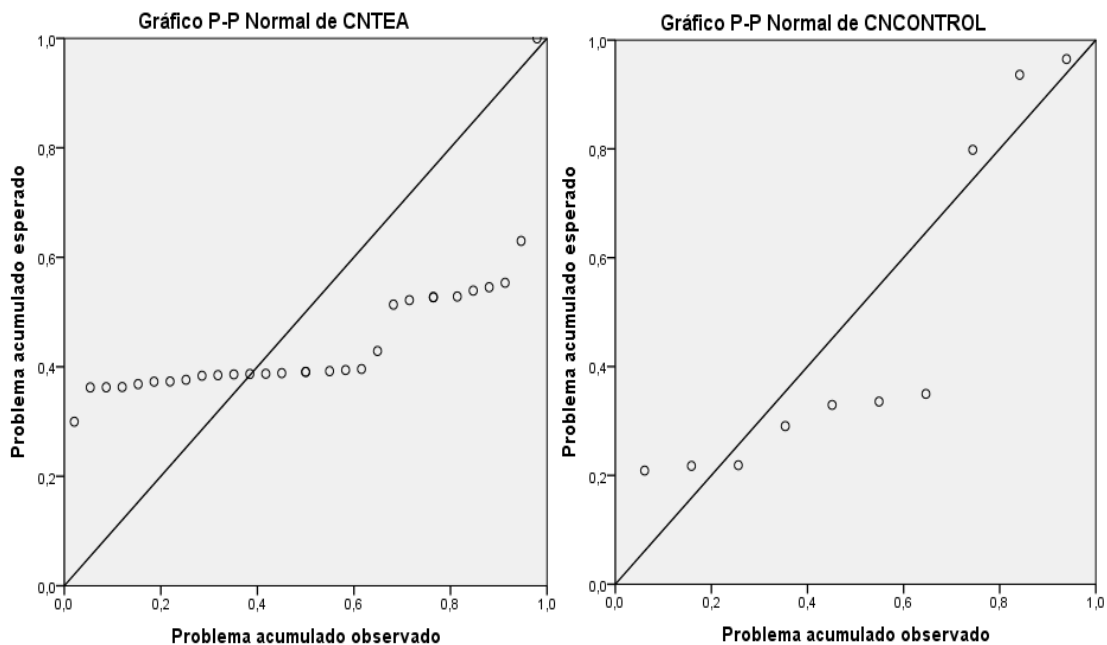


Gráfico N° 4 Análisis de los valores de anticuerpos anti-cardiolipina en niños con TEA comparado con niños con desarrollo típico.

ANTICUERPOS ANTI-B2 GLICOPROTEÍNA

El análisis realizado sobre los anticuerpos anti- β 2 glicoproteína en madres de niños con TEA y los niveles séricos de los mismo anticuerpo en sus hijos presentó una correlación positiva muy baja (Pearson de 0,087) (Gráfico N°5)

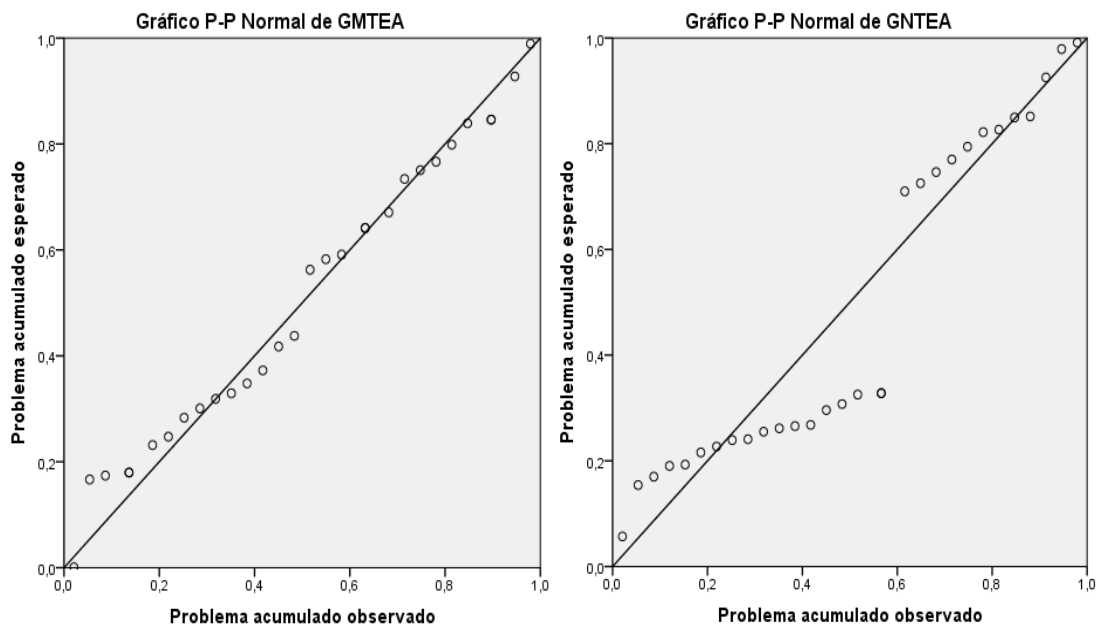


Gráfico N° 5 Análisis de los valores de anticuerpos anti- β 2 glicoproteína en madres y sus hijos con TEA.

En relación al análisis realizado sobre anti-β2 glicoproteína en madres de niños con desarrollo típico en cuanto a los niveles de sus hijos tenemos una correlación negativa muy baja (Pearson de -0.146). (Gráfico N°6)

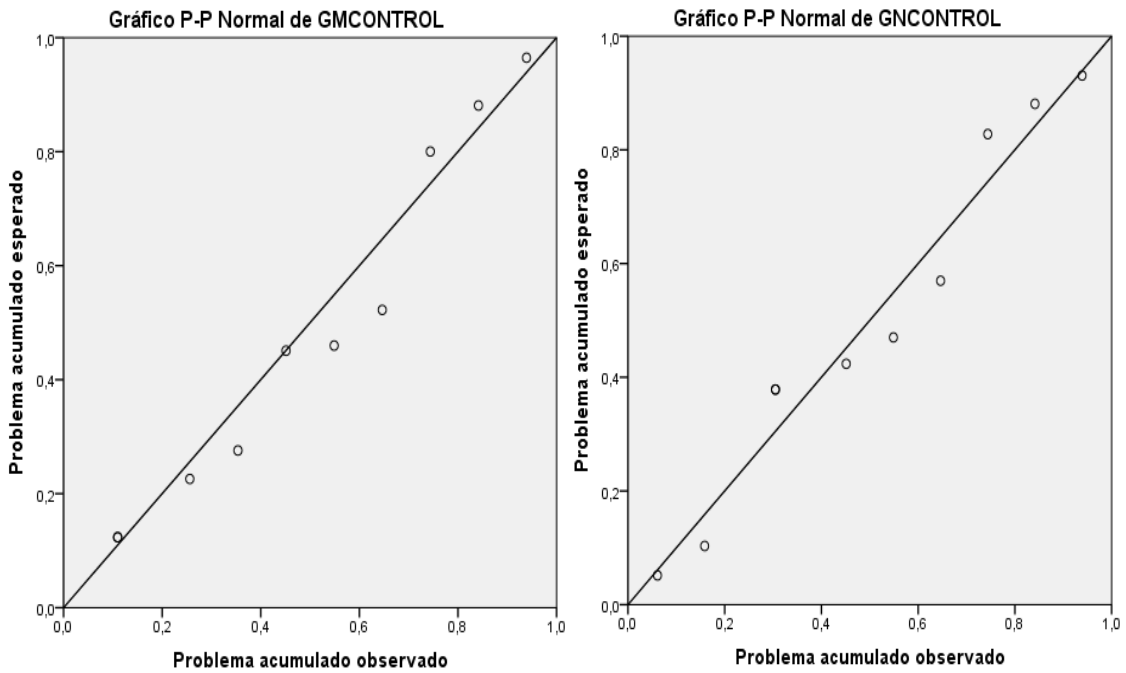


Gráfico N° 6 Análisis de los valores de anticuerpos anti-β2 glicoproteína en madres y sus hijos con desarrollo típico.

Al efectuar el análisis sobre anticuerpos anti-β2 glicoproteína en madres de niños con TEA comparado con los niveles de madres control tenemos una correlación negativa baja (Pearson de -0.213). (Gráfico N°7).

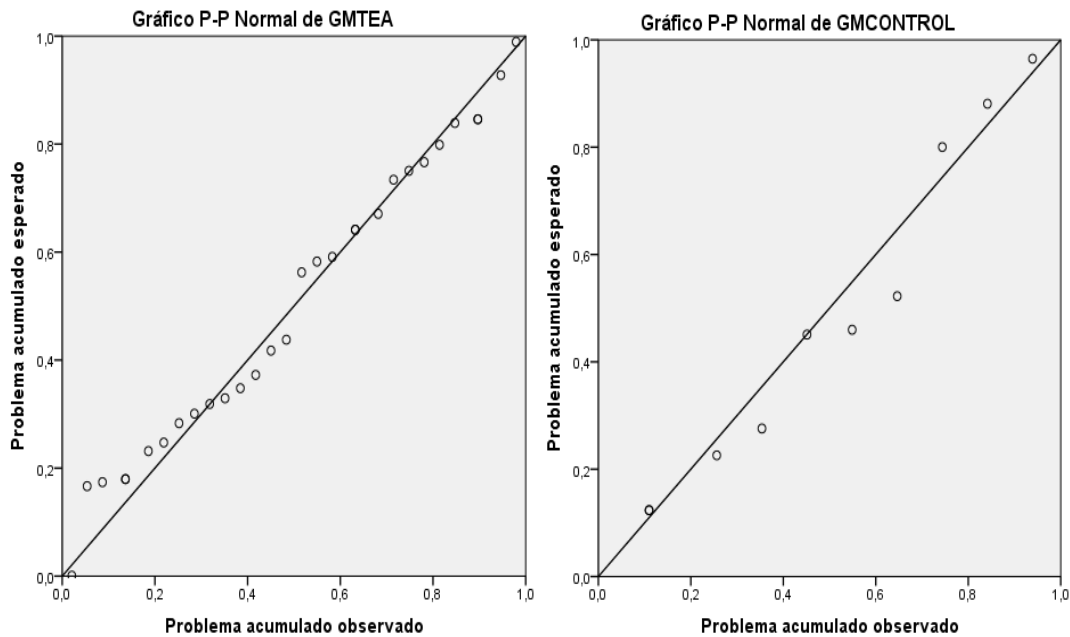


Gráfico N° 7 Análisis de los valores de anticuerpos anti-β2 glicoproteína en madres de niños con TEA y madres con desarrollo típico

De acuerdo al análisis realizado sobre anticuerpos anti-β2 glicoproteína en sujetos pediátricos con TEA en cuanto a los niveles de sujetos pediátricos con desarrollo típico tenemos una correlación negativa muy baja (Pearson de -0.150). (Gráfico N°8)

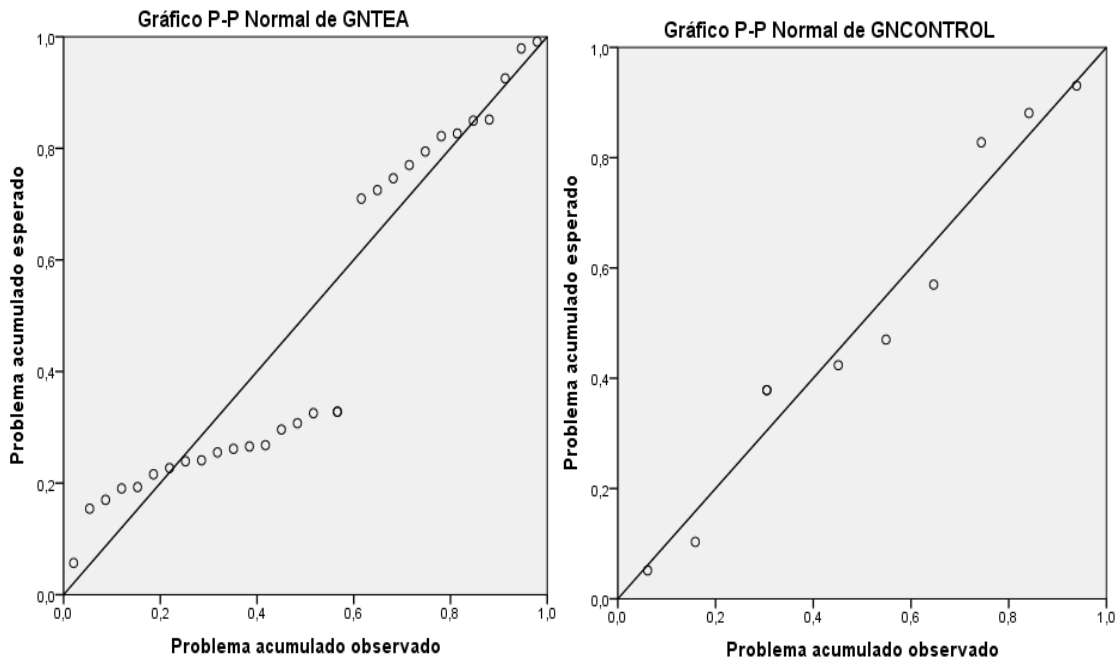


Gráfico N° 8 Análisis de los valores de anticuerpos anti-β2 glicoproteína en niños con TEA comparado con niños con desarrollo típico.

PRUEBA DE CHI CUADRADO

Anticuerpos anti-cardiolipina

La hipótesis nula se acepta a un nivel de significancia del 5% , $p > 0.05(0.311)$, es decir no hay diferencia estadísticamente significativa entre los valores séricos de anti-cardiolipina de las madres de sujetos pediátricos con TEA con respecto a los valores séricos determinados en sus hijos.

Anticuerpos anti-β2 glicoproteína

La hipótesis nula se acepta a un nivel de significancia del 5% , $p > 0.05(0.278)$, es decir no hay diferencia significativa entre las pruebas de madres de sujetos pediátricos con TEA en cuanto a anti-β2 glicoproteína con respecto a sus hijos.

DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue determinar los valores séricos de anticuerpos antifosfolípidos (anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína) en un grupo de niños con TEA (Trastorno del Espectro Autista), comparado con madres y niños con DT (desarrollo típico), a los cuales se les realizó un diagnóstico de acuerdo a un estricto criterio definido en ciertos instrumentos como una historia clínica detallada.

Los datos obtenidos en el presente estudio indican que los niños que presentan TEA tienen valores séricos de anticuerpos anti-cardiolipina IgG más altos que los niños con desarrollo típico y sus madres. Sin embargo se encontró que no existe una asociación entre los valores elevados de anti-cardiolipina en las madres con los valores elevados de anti-cardiolipina en niños con TEA. ($p > 0.05$), lo mismo sucedió al determinar anticuerpos anti- β 2 glicoproteína donde se evidencia que no existe una asociación entre los valores elevados de anti-cardiolipina en las madres comparado con los valores elevados de anti-cardiolipina en niños con TEA ($p > 0.05$).

La investigación realizada por los investigadores A, Mekinian et al., sobre un registro europeo de bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolípido documenta que se correlacionaron con los anticuerpos de la misma madre antes de los 6 meses de edad ($p < 0,05$) en donde si existieron anticuerpos antifosfolípidos en los sujetos pediátricos lo cual no contrasta con el presente estudio ya que presenta un estadístico de Pearson de 0,097 lo que significa que tenemos una correlación negativa muy baja ($P > 0.05$) de anticuerpos anti-cardiolipina en madres de sujetos pediátricos con TEA en relación a sus hijos. Respecto a los niveles séricos de anti- β 2 glicoproteína en madres de niños con TEA comparados con los niveles de sus hijos se encontró una correlación de Pearson de 0,087 lo que significa que tenemos una correlación positiva muy baja ($p > 0.05$).

En una investigación realizada por los investigadores F. Lageix et al sobre la asociación entre la presencia de anticuerpos anti-fosfolípidos y la aparición de trastornos del espectro autista en la infancia documenta que fueron evaluados niños con TEA (grupo 1) y niños sin TEA (grupo 2). Uno de los niños con TEA (2,3%) tenía anticuerpos persistentes anticardiolipina (ACL), cinco de ellos (11,4%) tenían anticuerpos persistentes APL, uno de ellos (2,3%) tenía anticuerpos anti-anexina V (AAV) y dos de ellos tenían anticuerpos anti-fosfatidiletanolamina (APE). Dos de los niños control

(7,7%) tenían anticuerpos persistentes APL. Ninguno de ellos tenían anticuerpos ACL, AAV, o APE persistentes. Comparando los niños del grupo 1 y 2, no se encontró diferencia significativa entre la presencia y los títulos de anticuerpos convencionales y no convencionales ($P < 0,05$). Además, la madre de un niño autista (3%) tenía anticuerpos persistentes APL, lo cual se contrasta con el presente estudio ya que presenta un estadístico de Pearson de 0,276 lo que significa que tenemos una correlación negativa baja entre los sujetos pediátricos con Tea en relación con los sujetos pediátricos con desarrollo típico.

En la investigación desarrollada por Abisor N. et al (10), sobre Trastornos del espectro autista en bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolípido, donde trabajaron con dos grupos obteniendo resultados de grupo 1, de 36 niños nacidos de madres ($n = 26$) con APS primaria, de los cuales el trastorno del espectro autista ocurrieron en 3 niños, todos ellos tenían anticuerpos IgG anti- β 2GP1 persistentes. El grupo 2 consistió en 12 niños nacidos de madres ($n = 9$) con lupus eritematoso no hubo trastornos del desarrollo neurológico, encontrado una diferencia significativa entre estos dos grupos respecto a los parámetros al nacer o durante el seguimiento. Concluyendo que los trastornos del espectro autista podrían observarse en bebés nacidos de madres con síndrome antifosfolípido, a diferencia de la presente investigación, existen algunos valores elevados pero sin una diferencia significativa.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- Determinamos los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-fosfolípidos (anti-aFL: anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína) en sujetos pediátricos mayores a 3 años con TEA se obtuvo que el 0.3 % presentan valores elevados de anti-cardiolipina, un porcentaje similar se encuentra dentro de los rangos normales (Li=12 Ls=18) y el 99,4% presentan concentraciones disminuidas. Respecto a los valores de anti- β 2 glicoproteína en sujetos pediátricos con TEA el 10 % presentan valores elevados y el 30% presentan concentraciones dentro de los rangos normales (Li=12 Ls=18), mientras que el 60 % presentan valores disminuidos y en los sujetos con desarrollo típico presentan valores normales; definiendo que los valores disminuidos no tienen importancia clínica.
- Identificamos los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes anti-aFL (anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína) en las madres de los sujetos pediátricos con TEA donde obtuvimos que el 0,3% presentan valores elevados y el 99,7% presentan concentraciones disminuidas, en cuanto a anti- β 2 glicoproteína en madres de niños con TEA tenemos que el 100% presentan concentraciones disminuidas.
- Correlacionamos los niveles séricos de autoanticuerpos circulantes: anti-aFL anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína en sujetos pediátricos con los TEA y sus madres donde no obtuvimos algún tipo de relación; por lo que se aceptó la hipótesis nula. Por último en la correlación de anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína en sujetos pediátricos con desarrollo típico con sus madres no se obtuvo relación alguna.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFÍA:

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología básica. Elsevier Health Sciences Spain - T; 2016.
2. Careaga M, Hansen RL, Hertz-Piccolto I, Van De Water J, Ashwood P. Increased anti-phospholipid antibodies in autism spectrum disorders. *Mediators Inflamm.* 2013;2013.
3. Carlos J, Beauchamp TL, Childress JF. Los principios de la bioética y el surgimiento de una bioética intercultural. *Verit N°.* 2010;22(Marzo):121–57.
4. Francesc C. EL AUTISMO: Aspectos descriptivo y terapéuticos. 2000;109.
5. Gmbh D, Ring KGM, Tel G. Instruction Manual of Cardiolipin.
6. Gmbh D, Ring KGM, Tel G. Instruction Manual of anti-β2 glicoproteína.
7. Mekinian A, Lachassinne E, Nicaise-Roland P, Carbillon L, Motta M, Vicaut E, et al. European registry of babies born to mothers with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(2):217–22.
8. Parham P. Inmunología (4a. ed.). Editorial El Manual Moderno; 2015. 621 p.
9. Raimondia R, Parsehianb S Der. Síndrome Antifosfolípido En El Embarazo: Características Clínicas, Diagnóstico, Patogénesis Y Tratamiento. *Rev Hosp Ma.* 2010;29((4)):147–54.

LINKOGRAFÍA

1. Abisror N, Mekinian A, Lachassinne E, Nicaise-Roland P, De Pontual L, Chollet-Martin S, et al. Autism spectrum disorders in babies born to mothers with antiphospholipid syndrome. *Semin Arthritis Rheum* [Internet]. 2013 Dec [cited 2017 Jun 29];43(3):348–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23910451>
2. Alberto CC. Autoinmunidad y autoinflamación. *Acta Médica Colomb* [Internet]. 2011 [cited 2017 Aug 2];36(1):78–84. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/amc/v36n2/v36n2a05.pdf>
3. Anaya J-M, Gómez L, Castiblanco J. Is there a Common Genetic Basis for Autoimmune Diseases? *Clin Dev Immunol* [Internet]. 2006 [cited 2017 Aug 5];13(2–4):185–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17162361>
4. American Psychiatric Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales: DSM-5 [Internet]. 5° Edition. Editorial Médica Panamericana; 2014 [cited 2017 Jul 11]. 1000 p. Available from: <https://drive.google.com/file/d/0B0S7uYY8HM-zMllfVnV3Umw4SkE/view>
5. Camila Siqueira. Tipos de investigación: Descriptiva, Exploratoria y Explicativa [Internet]. 4-09-2017. 2017 [cited 2017 Nov 30]. Available from: <http://noticias.universia.cr/educacion/noticia/2017/09/04/1155475/tipos-investigacion-descriptiva-exploratoria-explicativa.html>
6. Comisión Científica L y A de MSM, Sociedad Médica de México., Academia de Medicina de México (1871-1887), Academia Nacional de Medicina de México. *Gaceta médica de México*. [Internet]. Vol. 141, *Gaceta médica de México*. Academia Nacional de Medicina; 2005 [cited 2017 Jul 4]. 143-147 p. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132005000200009
7. Díaz Mosquera M, Zúñiga A. El Trastorno del Espectro Autista (tea) en la educación regular: estudio realizado en instituciones educativas de Quito, Ecuador. 2015; Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/802/80242935009.pdf>
8. Dr. Rogelio Orizondo Ansola. Las pérdidas fetales en el síndrome antifosfolípido: nuevos mecanismos patogénicos y opciones terapéuticas

- [Internet]. 1999 [cited 2017 Oct 31]. Available from: http://bvs.sld.cu/revistas/gin/vol25_3_99/gin02399.htm
9. Edmiston E, Ashwood P, De J Van. Author 's Accepted Manuscript and autism. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.08.031>
 10. Hermann González Buriticá M. LABORATORIO DEL SÍNDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDO, REUMATOLOGÍA [Internet]. [cited 2017 Dec 4]. Available from: <https://encolombia.com/medicina/revistas-medicas/reumatologia/vol-6299/reumatologia-diagnostico-por/>
 11. Lageix F, Nicaise-Roland P, Houlier M, Zylberberg P, Dubrel M, Heulin M, et al. Lien entre trouble du spectre autistique de l'enfant et anticorps antiphospholipides : une étude cas-témoin. *Arch Pédiatrie* [Internet]. 2015 Nov [cited 2017 Jun 29];22(11):1140–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26386813>
 12. Meltzer A, Van de Water J. The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2017;42(1):284–98. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/npp.2016.158>
 13. Monserrat Sanz J, Gómez Lahoz AM, Sosa Reina MD, Prieto Martín A. Introducción al sistema inmune. Componentes celulares del sistema inmune innato. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado* [Internet]. 2017;12(24):1369–78. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304541216302311>
 14. Molina Ramírez N. La bioética: sus principios y propósitos, para un mundo tecnocientífico, multicultural y diverso. *Rev Colomb Bioética* [Internet]. 2013;8(2):18–37. Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/1892/189230852003.pdf>
 15. OMS | Trastornos del espectro autista. WHO [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 26]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/autism-spectrum-disorders/es/>
 16. Psc. Zambrano Paola. Ecuador: Escaso diagnóstico de autismo en sector público [Internet]. [cited 2017 Jun 28]. Available from: <http://www.redaccionmedica.ec/secciones/salud-publica/ecuador-escaso-diagnostico-de-autismo-en-sector-p-blico-87485>
 17. Torres García J, Agüero SD. Fosfolípidos: Propiedades y efectos sobre la salud.

- Nutr Hosp [Internet]. 2015 [cited 2017 Aug 7];31(1):76–83. Available from: <http://www.uss.cl/biblioteca/wp-content/uploads/2015/09/42.pdf>
18. Trottier G, Srivastava L, Walker CD. Etiology of infantile autism: a review of recent advances in genetic and neurobiological research. J Psychiatry Neurosci [Internet]. 1999 Mar [cited 2017 Jun 29];24(2):103–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10212552>
19. Universidad Internacional de Valencia. Recopilación de artículos sobre el espectro autista - VIU – Tu Universidad Online | Grados y Másteres Online [Internet]. 18-02. 2015 [cited 2017 Jul 4]. p. 3. Available from: <http://www.viu.es/recopilacion-de-articulos-sobre-el-espectro-autista/>

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASES DE DATOS UTA

PROQUEST: Formisano, Yhara. Implicit Meaning Comprehension in Autism Spectrum Disorders [Internet]. Newcastle-upon-Tyne: Cambridge Scholars Publishing; 2015. [cited 2017 December 4]. Available from: ProQuest Ebook Central

PROQUEST: García-Frade Ruiz, Luis Fernando. Tratado de trombosis [Internet]. México, D.F.: Editorial Alfil, S. A. de C. V.; 2015. [cited 2017 December 4]. Available from: ProQuest Ebook Central

PROQUEST: Estrada Aranda, Benito, Sleeboom-van Raaij, Ines, editors. Mental Health Services for Deaf People : Treatment Advances, Opportunities, and Challenges [Internet]. Washington, DC: Gallaudet University Press; 2016. [cited 2017 December 4]. Available from: ProQuest Ebook Central

SCOPUS: Vilhena J, Vicente H, Rosário Martins M, Grañeda JM, Caldeira F, Gusmão R, et al. Antiphospholipid syndrome risk evaluation. *Adv Intell Sys Comput* 2016;444:157-167.

SCOPUS: Han J, Zeng K, Kang J, Tong Z, Cai E, Chen H, et al. Development of Brain Network in Children with Autism from Early Childhood to Late Childhood. *Neuroscience* 2017;367:134-146.

ANEXOS

ANEXO 1 : Aprobación de consejo directivo

CONSEJO DIRECTIVO

FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Resolución: CD-P-1580
Ambato, 05 de junio de 2017

Señorita
Villacís Villacís Liliana Carolina
ESTUDIANTE
Carrera de Laboratorio Clínico
Facultad de Ciencias de la Salud
Presente

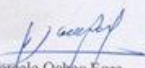
De mi consideración:


El H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud, en Sesión Ordinaria del 05 de junio de 2017, en conocimiento del oficio UTA-UAT-FCS-2017-0239-M, suscrito por el Dr. Mg. Jorge Morales Solís, Presidente, Unidad de Titulación, sugiriendo se apruebe el tema de investigación de la señorita estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, al respecto.

CONSEJO DIRECTIVO, RESUELVE:


- **AUTORIZAR A LA SEÑORITA VILLACÍS VILLACÍS LILIANA CAROLINA, ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DEL CICLO ACADÉMICO MARZO- SEPTIEMBRE 2017, OPTAR POR LA MODALIDAD DE GRADUACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.**
- **APROBAR EL PLAN DE TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN CON EL TEMA "NIVELES SÉRICOS DE AUTOANTICUERPOS ANTI-FOSFOLÍPIDOS EN SUJETOS PEDIÁTRICOS CON LOS TRASTORNOS DEL ESPECTRO AUTISTA Y SU CORRELACIÓN CON LOS NIVELES SÉRICOS MATERNOS", PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA LABORATORIO CLÍNICO.**
- **DESIGNAR COMO TUTOR DEL TRABAJOS DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN, AL LICENCIADO MSC. NEOMAR SEMPRÚN HERNANDEZ, QUIEN DEBERÁ PRESENTAR UN INFORME BIMENSUAL DE SU AVANCE Y UNO AL FINAL, DE CONFORMIDAD CON EL ART. 14 DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO TERMINAL DE TERCER NIVEL DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.**
- **AUTORIZAR A LA SEÑORITA ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN EN LOS PLAZOS ESTABLECIDOS EN LA DISPOSICIÓN GENERAL, INCISO TERCERO Y CUARTO DEL REGLAMENTO DE REGIMEN ACADÉMICO.**

Atentamente,


Dr. Marcelo Ochoa Egas
Presidente



C.C. **Lcda. MSC. NEOMAR SEMPRÚN HERNANDEZ; tutor (proyecto de investigación)**
Carpeta estudiantil
Anexo oficio UTA-UAT-FCS-2017-00230-M (4 hojas)
MO/SV

 UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE AMBATO Cda. Ingahurco Teléfono (03) 3 730 268 Ext. 5211 www.uta.edu.ec

ANEXO 2: Consentimiento informado



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

SE LE SOLICITA QUE LEA DETENIDAMENTE EL SIGUIENTE MATERIAL PARA QUE ESTÉ INFORMADO ACERCA DE LA NATURALEZA DE ESTA INVESTIGACIÓN Y DE LA FORMA EN QUE USTED PARTICIPARÁ EN ÉL, SI DIERA SU CONSENTIMIENTO PARA HACERLO. LA FIRMA DEL FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INDICARÁ QUE USTED HA SIDO INFORMADO Y QUE ACEPTA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO.

IDENTIFICACIÓN

Yo, _____, C.I. _____, Edad: _____,
Domiciliado en _____, Nacionalidad
_____, Estado Civil: _____ telf. hab. _____ telf. cel.
_____. Siendo mayor de 18 años y en pleno uso de mis facultades y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio; en calidad de representante legal del niño(a) _____ nacido(a) el
____/____/____.

DECLARO MEDIANTE LA PRESENTE

1. Haber sido informado de manera clara y sencilla por parte de los investigadores MSc. Neomar Semprún-Hernández y Carolina Villacis de todos los aspectos relacionados al proyecto. Tener conocimiento claro que el objetivo de este estudio es analizar los niveles séricos de auto anticuerpos circulantes anti fosfolípidos (anti-AFL) en sujetos pediátricos con TEA (Trastornos del espectro autista), TDAH (Trastorno por déficit de atención e hiperactividad), desarrollo típico y su correlación con los niveles séricos maternos y perfiles del comportamiento.
2. Que estoy de acuerdo en el uso, para fines de investigación, de los resultados obtenidos en el presente estudio.
3. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente para la salud mía ni de mi representado.
4. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse de dicha investigación.
5. Que los datos clínicos y experimentales obtenidos permanecerán confidenciales, a menos que sea solicitado por ley.

DECLARACION VOLUNTARIA

Luego de haber leído y comprendido la respuesta recibida a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

- a) La donación de manera voluntaria de dos (1) muestras de sangre, aceptando las condiciones estipuladas y autorizando al equipo de investigadores al referido estudio con las muestras biológicas de mi representado.
- b) Reservarme el derecho de revocar esta autorización así como mi participación en el proyecto, en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia hacia mi persona y mi representado.

FIRMA DEL REPRESENTANTE

FIRMA DEL INVESTIGADOR

DECLARACION DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que a mi saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimiento, riesgo y beneficio de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médico, de idioma o instrucción ha impedido la clara comprensión de su compromiso con el estudio.

ASENTIMIENTO INFORMADO

He sido testigo de la lectura exacta del documento al participante potencial y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que ha dado su asentimiento libremente.

FIRMA DEL TESTIGO, NOMBRE y CI.

EN AMBATO A LOS _____ DIAS DEL MES DE _____ DE 2017

ANEXO 3: Historia clínica

HISTORIA CLINICA		CODIGO: _____	
		Fecha de Reporte: ____ / ____ / ____	
DATOS DEL REPRESENTANTE			
Nombres y Apellidos			Edad
Cedula	Ocupación:	Procedencia:	
Correo:		Teléfonos:	
DATOS DEL PARTICIPANTE			
Nombres y Apellidos			Edad
Sexo: N() F()		Raza:	
Dirección:			
F. y lugar de Nac.			
SANEAMIENTO AMBIENTAL			
Disponibilidad de agua: Potable ___ Acueducto ___ Camión cisterna ___ Embotellada ___ Hervida ___ Almacenamiento: Pipas ___ Tanques ___ Tapadas ___ Limpias ___ Frecuencia de lavado ___ otras ___ Usa cucharones Si ___ No ___			
Lavado de manos: Antes de preparar los alimentos: Si ___ No ___ Después de ir al baño: Si ___ No ___			
Disposición de las excretas: Campo abierto ___ Letrinas ___ Red de Cloacas ___ Se mantiene limpio: Si ___ No ___ Presencia de Lavamanos: Si ___ No ___ Adentro ___ Afuera ___ del baño.			
Situación Geográfica: Ríos: Si ___ No ___ Montañas: Si ___ No ___ Selva: Si ___ No ___ Bosque: Si ___ No ___ Médano: Si ___ No ___ Observaciones del medio ambiente			
Situación Epidemiológica: Cañadas: Si ___ No ___ Basureros: Si ___ No ___ Quemaderos: Si ___ No ___ Industrias: Si ___ No ___ Especifique			
Recolección de Basura: Recipiente con tapa ___ Sin tapa ___ Bolsas ___ Eliminación de basura: Aseo urbano: Si ___ No ___ Frecuencia ___ En la casa: Amontonada ___ Quemada ___ Frecuencia ___			
Condiciones de Vivienda: Rancho ___ Apartamento ___ Casa ___ Techo ___ Paredes ___ Piso de la vivienda: Arena ___ Cemento ___ Otro ___ Numero de Cuartos ___ Camas ___ Numero de baños ___ Cocina Si ___ No ___ Dentro de la casa ___ Tipo de cocina: Gas ___ Gas-planta ___ Patio ___ Leña ___ Comedor: Si ___ No ___ Sala: Si ___ No ___ Mascotas ___			
ESCALA DE GRAFFAR (Mendez Castellanos, 1986)			
A.- Profesión del jefe de familia. <ol style="list-style-type: none"> 1. Profesión Universitaria, financistas, banqueros, comerciantes, todos de alta productividad, Oficiales de las Fuerzas Armadas (si tienen un rango de Educación Superior) 2. Profesión Técnica Superior, medianos comerciantes o productores 3. Empleados sin profesión universitaria, con técnica media, pequeños comerciantes o productores 4. Obreros especializados y parte de los trabajadores del sector informal (con primaria completa) 5. Obreros no especializados y otra parte del sector informal de la economía (sin primaria completa) 			
B.- Nivel de instrucción de la madre. <ol style="list-style-type: none"> 1. Enseñanza Universitaria o su equivalente 2. Técnica Superior completa, enseñanza secundaria completa, técnica media. 3. Enseñanza secundaria incompleta, técnica inferior 4. Enseñanza primaria o alfabeta (con algún grado de instrucción primaria) 5. Analfabeta 			
C.- Fuente de Ingreso (o Modalidad de ingreso). <ol style="list-style-type: none"> 1. Fortuna heredada o adquirida 2. Ganancias o beneficios, honorarios profesionales 3. Sueldo mensual 4. Salario semanal, por día, entrada a destajo 5. Donaciones de origen público o privado 			
D.- Condiciones de alojamiento. <ol style="list-style-type: none"> 6. Vivienda con óptimas condiciones sanitarias en ambientes de gran lujo 7. Viviendas con óptimas condiciones sanitarias en ambientes con lujo sin exceso y suficientes espacios 8. Viviendas con buenas condiciones sanitarias en espacios reducidos o no, pero siempre menores que en las viviendas 1 y 2 9. Viviendas con ambientes espaciosos o reducidos y/o con deficiencias en algunas condiciones sanitarias 10. Rancho o vivienda con condiciones sanitarias marcadamente inadecuadas 			
			TOTAL:

ANEXO 4: Aprobación para realizar los estudios en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Salud

Ambato, 7 de septiembre de 2017

Bqf.

Martha Ramos

COORDINADORA DE LA LABORATORIO CLÍNICO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Presente


De nuestras consideraciones:

Nosotros estudiante de Décimo semestre "U" de la Carrera de Laboratorio Clínico, nos dirigimos a usted de la manera más comedida para solicitarle se me permita utilizar el Laboratorio de Biología Molecular los días:


- Capuz Guananga Nancy del Pilar los días 11 y 12 de septiembre del presente año.
Examen de Anti -mieloperoxidasa y Anti - proteinasa 3
- Villacis Villacis Liliana Carolina los días 13 y 14 de septiembre del presente año
Examen Anticardiopina y Anti - beta 2, Glicoproteína.
- López Bautista Paúl Santiago los días 15 y 18 de septiembre del presente año.
Examen Antigliadina y Anti - CCP

Por la gentil atención a lo manifestado, nos suscribimos de Usted.

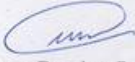
Atentamente


Capuz Guananga Nancy del Pilar

C.C. 1804247755


Villacis Villacis Liliana Carolina

C.C. 0503293227


López Bautista Paúl Santiago

C.C. 0503697930



Dr. Dione J. J. J.
Favor
coordinar
lo solicitado.

ANEXO N 5 Resultados del análisis de anti-cardiolipina y anti-β2 glicoproteína en sujetos pediátricos con TEA sus madres, sujetos pediátricos con desarrollo típico y sus madres.

N°	NIVELES DE CARDIOLIPINA SUJETOS PEDIATRICOS CON TEA	NIVELES DE CARDIOLIPIN A MADRES DE SUJETOS PEDIATRICOS CON TEA	NIVELES DE CARDIOLIPIN A SUJETOS PEDIATRICOS CON DESARROLLO TIPICO	NIVELES DE CARDIOLIPIN A MADRES DE SUJETOS	NIVELES DE GLICOPROTEIN A NIÑOS	NIVELES DE GLICOPROTEIN A MADRES	NIVELES DE GLICOPROTEIN A NIÑOS CONTROLES	NIVELES DE GLICOPROTEIN A MADRES CONTROLES
1	2,09	1,82	2,57	2,20	14,79	6,36	5,89	5,71
2	2,08	1,70	7,46	7,56	17,26	7,79	6,11	5,72
3	6,43	7,59	2,04	2,72	7,11	6,96	6,89	6,14
4	6,80	2,22	5,84	2,54	7,82	7,50	6,57	5,25
5	8,83	1,85	2,03	2,78	24,66	8,00	5,82	5,79
6	3,57	2,03	2,83	1,93	16,59	2,31	6,71	5,50
7	0,01	2,65	2,87	6,43	2,70	5,39	5,96	6,57
8	5,98	2,20	1,96	1,93	17,21	7,14	5,25	5,43
9	2,50	1,74	2,96	2,09	8,96	5,86	5,03	6,29
10	2,60	24,72	8,14	2,96	7,93	8,04	5,82	5,25
11	2,40	2,48			9,00	7,64		
12	1,80	2,41			6,18	6,93		
13	2,17	1,85			7,32	5,93		
14	2,70	1,79			15,57	5,36		
15	6,12	1,63			16,03	9,79		
16	1,96	1,83			15,15	5,64		
17	2,46	2,65			8,50	5,32		
18	5,77	2,72			8,68	5,71		
19	2,47	2,89			6,61	7,25		
20	58,76	1,16			22,76	6,86		
21	2,65	2,13			19,47	6,43		
22	1,79	1,79			5,82	5,39		
23	6,15	5,70			7,57	8,64		
24	2,37	2,47			16,69	6,00		
25	6,59	1,28			8,04	6,11		
26	2,56	6,90			7,54	6,20		
27	6,12	2,17			9,00	7,57		
28	2,44	1,76			14,54	8,04		
29	1,81	2,28			6,66	6,04		
30	2,56	2,27			8,00	7,14		

ANEXO 6: Inserto de anti-cardiolipina y anti- β 2 glicoproteína



AESKULISA[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

**INSTRUCTION
MANUAL**

AESKULISA Cardioliipin-GM
Ref 3204



DIN EN ISO 13485



Product Ref.	3204
Product Desc.	Cardiolipin-GM
Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

Manual de Instrucciones

Contenido

1	Utilización	1
2	Aplicación clínica y principio del ensayo	1
3	Contenido del equipo	2
4	Almacenamiento y Caducidad	2
5	Precauciones	3
6	Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras	4
7	Procedimiento del ensayo	4
8	Interpretación Cuantitativa y Cualitativa	7
9	Datos Técnicos	8
10	Datos de funcionamiento	8
11	Bibliografía	9



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3204
	Product Desc.	Cardiolipin-GM
	Manual Rev. No.	003 - 2013-10-10

1 Utilización

AESKULISA Cardiolipin-GM es un enzoinmunoensayo en fase sólida que emplea cardiolipina elevadamente purificada y β 2-glicoproteína I humana nativa para la detección cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgG y/o IgM contra cardiolipina en suero humano. Los anticuerpos anti-cardiolipina reconocen principalmente epitopos en un complejo compuesto de cardiolipina y β 2-glicoproteína I, los cuales se expresan solamente cuando la β 2-glicoproteína I interacciona con la cardiolipina. El ensayo es una ayuda en el diagnóstico y la estimación del riesgo de trombosis en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES).

2 Aplicación clínica y principio del ensayo

Los anticuerpos contra cardiolipina pertenecen al grupo de los anticuerpos anti-fosfolípidos específicos para fosfolípidos cargados negativamente que son componentes de las membranas biológicas. La cardiolipina es un fosfolípido ácido derivado del glicerol y fue denominado así debido a su aislamiento desde corazón bovino en 1941. Los anticuerpos anti-fosfolípidos se encuentran frecuentemente en sueros de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y enfermedades relacionadas. La prevalencia de los anticuerpos anti-cardiolipina en el LES es del 24-50 %.

La aparición de anticuerpos anti-cardiolipina en pacientes con LES y enfermedades relacionadas es típica en el síndrome anti-fosfolípido (SAF) secundario. En contraste, los anticuerpos anti-cardiolipina en pacientes con ninguna otra enfermedad autoinmune caracterizan el síndrome anti-fosfolípido (SAF) primario. Muchos estudios han mostrado una correlación entre estos autoanticuerpos y una aumentada incidencia de trombosis, trombocitopenia y abortos habituales (como consecuencia de infarto de placenta). El mecanismo exacto de la inducción de trombosis por parte de los anticuerpos anti-fosfolípidos no ha sido aún revelado completamente.

Principio del test

Las muestras de suero diluidas 1:101 se incuban en la microplaca revestida con el antígeno específico. Los anticuerpos de los pacientes, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por el lavado en el paso siguiente. Después, las inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa (conjugado) se incuban y reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras dentro de la microplaca. El conjugado no unido es retirado a través del lavado en el paso siguiente. La adición del sustrato-TMB genera una reacción colorimétrica (azul) enzimática que se detiene a través de ácido diluido (el color cambia a amarillo). La intensidad de formación de color a partir del cromógeno depende de la cantidad de conjugado unido al complejo antígeno-anticuerpo y es proporcional a la concentración inicial de los respectivos anticuerpos en la muestra del paciente.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3204
	Product Desc.	Cardiotropin-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

3 Contenido del equipo

PARA SER RECONSTITUIDO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Tampón de muestra (5x)	1 x 20 ml	Blanco	Amarillo	Concentrado 5 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Tampón de lavado (50x)	1 x 20 ml	Blanco	Verde	Concentrado 50 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), Tween 20, azida sódica < 0,1 % (conservante)
LISTO PARA EL USO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Control negativo	1 x 1,5 ml	Verde	Incoloro	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Control positivo	1 x 1,5 ml	Rojo	Amarillo	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibrador cut-off	1 x 1,5 ml	Azul	Amarillo	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibradores	6 x 1,5 ml	Blanco	Amarillo *	Concentración de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 GPL/ml o MPL/ml. Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Conjugado, IgG IgM	1 x 15 ml 1 x 15 ml	Azul Verde	Azul Verde	Contiene: Inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa de rábano picante, albúmina de suero bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15 ml	Negro	Incoloro	Terametilbenzidina estabilizada y peróxido de hidrógeno (TMB/H ₂ O ₂)
Solución de paro	1 x 15 ml	Blanco	Incoloro	Ácido clorhídrico 1M
Placa Microtiter	12 x 8 tiras de pocillos	N/D	N/D	Con tiras rompibles de pocillos. Consulte el párrafo 1 para obtener información sobre revestimiento.
* La intensidad del color aumenta con la concentración				
MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO				
Filtro de lectura de 450 nm para lector de tiras Microtiter y filtro de referencia recomendado de 620 nm (600-690 nm). Equipo de cristal (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensayo para diluciones. Mezclador espiral, pipetas de precisión (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o pipeta múltiple ajustable (100-1000 µl). Dispositivo de lavado de la microplaca (pipeta de repetición o microcanal de 300 µl o sistema automatizado), papel absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4ª ed.).				

4 Almacenamiento y Caducidad

Guarde todos los reactivos y la microplaca a 2-8°C/35-46°F, en sus envases originales. Una vez preparadas, las soluciones reconstituidas son estables durante 1 mes a 2-8°C/35-46°F, por lo menos. Los reactivos y la microplaca deben ser utilizados solamente dentro del margen de caducidad indicado en cada componente. Evite la exposición de la solución TMB a la luz intensa. Guarde las microplacas en su sobre correspondiente, incluyendo el desecante, y séllelo bien.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3204
	Product Desc.	Cardiolpin-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

5 Precauciones

5.1 Datos de riesgo para la salud

ESTE PRODUCTO ES SOLO PARA EL USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO . Por lo tanto, solamente el personal formado y especialmente asesorado en los métodos de diagnóstico in vitro puede realizar el ensayo. Aunque este producto no se considera especialmente tóxico ni peligroso en las condiciones de uso previsto, siga estas recomendaciones para garantizar un nivel de seguridad óptimo:

Recomendaciones y precauciones

Este equipo contiene componentes potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del equipo no están clasificados como irritantes de los ojos y la piel, recomendamos evitar el contacto de los mismos con los ojos y con la piel y utilizar guantes desechables.

¡AVISO! Los calibradores, controles y agentes contienen ázida de sodio (NaN₃) como conservante. El NaN₃ puede ser tóxico si se ingiere o se absorbe por medio de la piel o de los ojos. El NaN₃ puede reaccionar con la fontanería de plomo y de cobre y formar ázida metálica muy explosiva. Al tirar tirarla, deje correr una gran cantidad de agua para evitar que la ázida tome consistencia. Por favor, consulte los procesos de descontaminación del CDC u otras directrices locales o nacionales.

No fume, coma o beba mientras manipule el equipo. No pipetee con la boca.

Todo el material de fuente humana utilizado en algunos reactivos de este equipo (por ejemplo controles, standards) ha sido analizado a través de métodos aprobados y ha resultado ser negativo para HbsAg, Hepatitis C y HIV 1. No obstante, ningún test puede completamente garantizar la ausencia de agentes virales en ese tipo de material. Por lo tanto, manipule los controles, standards y muestras de los pacientes como si se trataran de auténticos transmisores de enfermedades infecciosas y según los requerimientos de manipulación de su país.

Como se indica en la sección Contenido del equipo, el equipo contiene material de origen animal que debe manipularse de acuerdo con la normativa nacional.

5.2 Instrucciones generales para la utilización

En caso de que observe defectos o datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

No mezcle o sustituya Control, Calibradores, Conjugado o microplacas de números de lote diferentes. Esto podría llevar a una variación de los resultados.

Deje que todos los componentes alcancen la temperatura (20-32°C/68-89,6°F) antes de utilizarlos. Agítelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para una óptima realización del ensayo.

Incubación: Se recomienda realizar las pruebas a 30°C/86°F para sistemas automatizados.

No exponga nunca los componentes a temperaturas más altas de 37°C/ 98,6 °F.

Pipetee siempre la solución de sustrato con puntas nuevas. Protega este reactivo de la luz. Nunca pipetee el conjugado con puntas previamente utilizadas con otros reactivos.

Un diagnóstico clínico definitivo no debe estar basado solamente en los resultados del ensayo realizado. Debe ser elaborado por el médico después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio. Es necesario verificar el diagnóstico por medio de distintos métodos.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3204
	Product Desc.	Cardiotpin-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

6 Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras

Utilice preferentemente muestras de suero recién extraídas. La extracción de sangre debe seguir los requerimientos de protocolo de su país.

No utilice muestras ictericas, lipemicas, hemolizadas o contaminadas por bacterias. Los sueros con partículas deben ser purificados por centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben ser recogidas en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras de plasma han de utilizarse durante las primeras 8 horas y conservarse herméticamente cerradas a 2-8°C/35-46°F hasta 48 horas o congeladas a -20°C/-4°F durante periodos más prolongados

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de dispensar

Diluya los reactivos concentrados:

Diluya el tampón de muestra concentrado a 1:5 con agua destilada (p.e. 20 ml en 80 ml)

Diluya el tampón de lavado concentrado a 1:50 con agua destilada (p.e. 20 ml en 980 ml).

A fin de evitar errores, es aconsejable marcar las tapas de los distintos calibradores.

Muestras:

Diluya las muestras de suero a 1:101 con tampón de muestra (1x)

p.e. 1000 µl tampón de muestra (1x) + 10 µl suero. Mezcle bien la dilución.

Lavado:

Prepare 20 ml de tampón de lavado diluido (1x) para 8 pocillos o 200 ml para 96 pocillos p.e. 4 ml de concentrado en 196 ml de agua destilada.

Lavado automático:

Tenga en cuenta los volúmenes de exceso requeridos para purgar el instrumento y el volumen muerto en el dispensador del aparato.

Lavado manual:

Descarte el líquido de los pocillos invirtiendo la placa. Golpee vigorosamente el marco con los micropocillos sobre papel absorbente limpio manteniendo la placa invertida. Dispense 300 µl de tampón de lavado diluido dentro de cada pocillo y espere 20 segundos. Repita el procedimiento entero dos veces más.

Microplacas:

Calcule el número de pocillos necesarios para el ensayo. Saque los pocillos no utilizados del marco, póngalos de nuevo en la bolsa de plástico suministrada junto con el desecante y séllela bien (2-8°C/35-46°F).

7.2 Esquema de dispensación

Se sugiere dispensar los calibradores, controles y muestras como sigue:

NOTA: Si se determina el tipo de anticuerpo (IgG o IgM) en paralelo, los calibradores, controles y muestras deberán realizarse por separado para cada tipo de anticuerpo.

Para una interpretación cuantitativa					Para una interpretación cualitativa				
	1	2	3	4...		1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1		A	NC	P2		
B	Cal A	Cal E	P1		B	NC	P2		
C	Cal B	Cal F	P2		C	CC	P3		
D	Cal B	Cal F	P2		D	CC	P3		
E	Cal C	PC	P3		E	PC	...		
F	Cal C	PC	P3		F	PC	...		
G	Cal D	NC	...		G	P1	...		
H	Cal D	NC	...		H	P1	...		

CalA: calibrador A

CalD: calibrador D

PC: positive control

P1: patient 1

CalB: calibrador B

CalE: calibrador E

NC: negative control

P2: patient 2



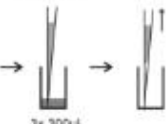
CalC: calibrador C

CalF: calibrador F



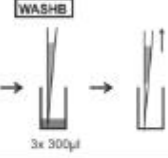


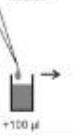

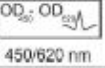
CC: cut-off calibrator

P3: patient 3

7.3 Esquema de trabajo

Paso	Descripción
1.	Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del pipeteado.
2.	Siga los pasos descritos a continuación de acuerdo con los resultados de interpretación cuantitativa y cualitativa que se deseen obtener:
CONTROLES y MUESTRAS	
3.	 <p>Pipetee en los pocillos designados (tal como se describe en el capítulo 7.2) 100 µl de:</p> <ol style="list-style-type: none"> Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interp. CUANTITATIVA o Calibrador cut-off (CC) para interp. CUALITATIVA y 100 µl de cada uno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> Control negativo (CN) y control positivo (CP), y Suero diluido de los pacientes (P1, P2...)
4.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.</p>
5.	 <p>Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).</p>



CONJUGADO		
6.	 +100 µl	Pipetee 100 µl de conjugado en cada pocillo.
7.	 30'	Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.
8.	 3x 300µl	Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).
SUBSTRATO		
9.	 +100 µl	Pipetee 100 µl de substrato TMB en cada pocillo.
10.	 30'	Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F y evite que reciba luz intensa.
PARO		
11.	 +100 µl	Pipetee 100 µl de solución de paro en cada pocillo siguiendo el mismo orden que al pipetear el substrato.
12.	 5'	Incube durante 5 minutos como mínimo.
13.		Agite la placa suavemente durante 5 seg.
14.	 450/620 nm	Lea la absorbancia a 450 nm (se recomienda 450/620 nm) durante los 30 minutos siguientes.



8 Interpretación Cuantitativa y Cualitativa

Para una **interpretación cuantitativa** establezca la curva standard trazando la densidad óptica (DO) de cada calibrador (eje y) con respecto a los correspondientes valores de concentración en GPL/ml, MPL/ml (eje x). Para unos mejores resultados recomendamos coordenadas log/lin y un ajuste a 4-PL. Partiendo de la DO de cada muestra, lea la correspondiente concentración de anticuerpo expresada en GPL/ml, MPL/ml.

Rango Normal	Indeterminado	Resultados Positivos
< 12 GPL/ml	12 - 18 GPL/ml	>18 GPL/ml
< 12 MPL/ml	12 - 18 MPL/ml	>18 MPL/ml

Ejemplo de curva standard

NO utilice este ejemplo para interpretar el resultado del paciente

Calibradores IgG	DO 450/620 nm	CV % (Variación)
0 GPL/ml	0,066	3,2
3 GPL/ml	0,162	0,4
10 GPL/ml	0,291	1,7
30 GPL/ml	0,597	1,3
100 GPL/ml	1,101	2,9
300 GPL/ml	2,039	0,4

Ejemplo de cálculo

Paciente	Replicado (DO)	Media (DO)	Resultado (GPL/ml)
P 01	0,772/0,752	0,762	48,8
P 02	1,058/1,038	1,048	82,9

Las muestras que se encuentren por encima del rango máximo de calibrador se deberán especificar como >Máx. Será necesario diluirlas según se considere apropiado y repetir el ensayo. Las muestras que se encuentren por debajo del rango del calibrador deberán especificarse como < Mín.

Para conocer los datos específicos de lote, consulte el documento adjunto de control de calidad. Los laboratorios deberían realizar un Control de Calidad interno utilizando controles propios y/o un „pool“ de sueros interno tal y como contemplan las regulaciones nacionales.

Cada laboratorio debería establecer su rango normal propio basado en sus propias técnicas, controles, equipamiento y población según sus propios procedimientos establecidos.

En caso de que los valores de los controles no se ajusten a los criterios, el ensayo se considerará válido y deberá repetirse.

Será necesario realizar las siguientes comprobaciones de problemas técnicos: Fechas de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, fotómetro, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar los elementos se obtuvieron valores exagerados, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por motivos inexplicables, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.

Para la **interpretación cualitativa** lea la densidad óptica del calibrador cut-off y la de las muestras de los pacientes. Compare las DO de los pacientes con la DO del calibrador cut-off. Para la interpretación cualitativa, recomendamos que establezca un rango del 20% al rededor del valor del cut-off como zona indeterminada. Todas las muestras que tengan DO superior a este rango se consideran positivas y las muestras con valores de DO inferiores a este rango se consideran negativas.:

Negativo		DO paciente	< 0,8 x DO cut-off
Indeterminado	0,8 x	DO cut-off	≤ DO paciente ≤ 1,2 x DO cut-off
Positivo		DO paciente	> 1,2 x OD cut-off

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3204
	Product Desc.	Cardiolipin-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

9 Datos Técnicos

Muestra:	suero
Volumen de muestra:	10 µl de muestra diluida a 1:101 con tampón de muestra 1x
Tiempo total de incubación:	90 minutos a temperatura 20-32°C/68-89,6°F
Rango de calibración:	0-300 GPL/ml, MPL/ml
Sensibilidad analítica:	1,0 GPL/ml, MPL/ml
Almacenamiento:	a 2-8°C/35-46°F utilice solo los viales originales
Número de determinaciones:	96 tests

10 Datos de funcionamiento

10.1 Sensibilidad analítica

La prueba del agente de muestra 30 veces en AESKULISA Cardiolipin-GM produjo una sensibilidad analítica de 1,0 GPL/ml, MPL/ml.

10.2 Especificidad y Sensibilidad

La microplaca está revestida con cardiolipina elevadamente purificada y β2-Glicoproteína I nativa humana.

No se encontraron reactividades cruzadas con otros autoantígenos. Los anticuerpos anti-cardiolipina se detectan hasta en un 70% de pacientes con LES.

10.3 Linealidad

Se han analizado con este equipo sueros seleccionados y se encontró que debían diluirse linealmente. No obstante, debido a la naturaleza heterogénea de los autoanticuerpos humanos, pueden haber muestras que no sigan esta regla.

Muestra N°	Factor de dilución	concentración medida (GPL/ml)	concentración esperada (GPL/ml)	Recuperación (%)
1	1 / 100	63,1	68,0	93,0
	1 / 200	33,7	34,0	99,1
	1 / 400	15,9	17,0	93,5
	1 / 800	9,0	8,5	105,9
2	1 / 100	138,6	141,8	97,7
	1 / 200	70,1	70,9	98,9
	1 / 400	33,2	35,5	93,5
	1 / 800	17,9	17,7	101,1

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3204
	Product Desc.	Cardiolipin-GM
	Manual Rev. No.	003 - 2013-10-10

10.4 Precisión

Para determinar la precisión del ensayo, se valoró la variabilidad (intra e inter-ensayo) a través del análisis de su reproducibilidad en tres muestras de suero. Estas muestras fueron seleccionadas para representar un rango por encima de la curva standard.

Intra-Ensayo		
Muestra N°	Media (GPL/ml)	CV (%)
1	586,2	1,5
2	67,4	3,4
3	34,5	7,6

Inter-Ensayo		
Muestra N°	Media (GPL/ml)	CV (%)
1	499,8	0,9
2	68,9	1,7
3	40,7	4,6

10.5 Calibración

Debido a la inexistencia de material de referencia de la OMS, el equipo AESKULISA Cardiolipin-GM está calibrado contra sueros de referencia de N.E. Harris, Louisville. Los resultados se expresan en GPL/ml para IgG y en MPL/ml para IgM. Además, AESKULISA Cardiolipin-GM se ha normalizado utilizando los estándares de Sapporo HCAL para IgG y EY2C9 para IgM.

11 Bibliografía






Asherton, R.A., Harris, E.N. (1986). Anticardiolipin antibodies - Clinical associations. Post. grad. Med. J. 62, 1081-1087.

Boey, M.L., Colaco, C.B., Gharavi, A.E., et al. (1983). Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. Br. Med. J. 287, 1021-1023.

Gastineau, D.A., Kazmier, F.J., Nichols, W.L., Bowie, E.J. (1985). Lupus anticoagulant: analysis of the clinical and laboratory features of 219 cases. Am. J. Hematol. 19, 265-267.

Harris, E.N., Gharavi, A.E., Boey, M.L., et al. (1983). Anticardiolipin antibodies: Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet Nov 26, 1211-1214.

Wöhrle R, Matthias T, von Landenberg P, Oppermann M, Helmke K, Förger F (2000). Clinical relevance of antibodies against different phospholipids. Journal of Autoimmunity 15, A60.

IVD	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnostico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnostico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό Όργανο
REF	Numero d ordine Reference Catalogue Bestellnummer Número de catálogo	Catalogue number Número de catálogo Αριθμός παραγγελίας
LOT	Descrizione lotto Lot Chargen Bezeichnung Lote	Lot Lote Χαρτζής αριθμός παραγγελίας
CE	Conformità europea Déclaration CE de Conformité Europäische Konformität Declaración CE de Conformidade	EC Declaration of Conformity Declaración CE de Conformidad Ευρωπαϊκή Συμβατότητα
	96 determinazioni 96 tests 96 Bestimmungen 96 Testes	96 tests 96 pruebas 96 προσομοιώσεις
	Respectare le istruzioni per l'uso Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten Ver se instrucciones de uso	See instructions for use Ver las instrucciones de uso Ανάγνωση οδηγιών χρήσης προϊόντος
	Da utilizzare entro Utiliser avant le Verwendbar bis Utilizar antes de	Use by Utilizar antes de Χρήση μέχρι
	Conservare a 2-8°C Conservar a 2-8°C Lagerung bei 2-8°C Conservar entre 2-8°C	Store at 2-8°C (35-46°F) Conservar a 2-8°C Φυλάξτε, χρησιμοποιήστε, 2-8°C
	Prodotto da Fabriqué par Hergestellt von Fabricado por	Manufactured by Fabricado por Κορπύ, Θεσσαλονίκη
CO-CAL	Calibratore cut-off Etalon Seal Grenzwert Kalibrator Calibrator de cut-off	Cut off Calibrator Calibrador de cut-off Όργανο μέτρησης ορίου διακοπή
CON +	Controllo positivo Control Positif Positiv Kontrolle Controlo positivo	Positive Control Control Positivo Θετικό ορόσημο
CON -	Controllo negativo Control Negatif Negativ Kontrolle Controlo negativo	Negative Control Control Negativo Αρνητικό ορόσημο
CAL	Calibratore Etalon Kalibrator Calibrador	Calibrator Calibrador Ανάμετρο, μέτρηση διακοπή
RC	Recupero Corrélation Wiederfindung Recuperación	Recovery Recuperación Ανάκτηση
CONJ	Coniugato Conjugé Konjugat Conjugado	Conjugate Conjugado Συζευγμένο
MP	Microplacina rivestita Microplaque sensibilisée Beschichtete Mikrotiterplatte Microplaca revestida	Coated microtiter plate Microplaca sensibilizada Επιχρωσμένη μικροτρίτρη
WASHB 50x	Tempone di lavaggio Tampon de Lavage Waschpuffer Solución de lavagem	Wash buffer Solución de lavado Πόσιμο διάλυμα πλύσης
SUB	Tempone substrato Substrat Substratpuffer Substrato	Substrate buffer Tampon sustrato Πόσιμο διάλυμα υποστρώματος
STOP	Reagente bloccante Solution d'arrêt Stopreagenz Solución de paragem	Stop solution Solución de parada Ανάμετρο, μέτρηση διακοπή, ούρα
SB 5x	Tempone campione Tampon Echantillon Probenpuffer Disuente de amostra	Sample buffer Tampon Muestra Πόσιμο διάλυμα δείγματος



AESKULISA[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA β 2-Glyco-GM
Ref 3206



DIN EN ISO 13485



AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

Product Ref.	3206
Product Desc.	β 2-Glyco-GM
Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

Manual de Instrucciones

Contenido

1	Utilización	1
2	Aplicación clínica y principio del ensayo	1
3	Contenido del equipo	2
4	Almacenamiento y Caducidad	2
5	Precauciones	3
6	Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras	4
7	Procedimiento del ensayo	4
8	Interpretación Cuantitativa y Cualitativa	7
9	Datos Técnicos	8
10	Datos de funcionamiento	8
11	Bibliografía	9



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3206
	Product Desc.	β2-Glyco-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

1 Utilización

AESKULISA β2-Glyco-GM es un enzoinmunoensayo en fase sólida que emplea β2 glicoproteína I nativa altamente purificada desde plasma humano para la detección cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgG y/o IgM contra β2 glicoproteína I en suero humano. Los anticuerpos anti-β2 glicoproteína I reconocen epitopos específicos en la β2 glicoproteína I humana los cuales se expresan solamente cuando la β2 glicoproteína I interacciona con las membranas lipídicas o cuando es absorbida en otras superficies (por ejemplo placa de micropocillos).

El ensayo es una ayuda para el diagnóstico y estimación del riesgo de síndrome antifosfolipídico primario y secundario.

2 Aplicación clínica y principio del ensayo

Los anticuerpos contra β2-glicoproteína I pertenecen al grupo de anticuerpos antifosfolipídicos que se dirigen principalmente contra complejos compuestos de fosfolípidos cargados negativamente (p.e. cardiolipina) y proteínas del plasma como β2- glicoproteína I, protrombina, proteína C o proteína S.

Se ha visto también reactividad contra la β2- glicoproteína I aislada. De ahí que se hable acerca de que la β2-glicoproteína I sea un autoantígeno de sí misma. La β2-glicoproteína I, también llamada apolipoproteína H, es una β2 globulina de 50 kDa que se asocia in vivo con lipoproteína, plaquetas y fosfolípidos y que parece inhibir la vía de la coagulación intrínseca, la actividad de la protrombinasa y la agregación de las plaquetas ADP-dependiente. Los anticuerpos anti-fosfolipídicos se encuentran frecuentemente en sueros de pacientes con lupus eritematoso sistémico y enfermedades relacionadas y son típicos en el desarrollo secundario de un síndrome anti-fosfolipídico (SAF). Por otro lado, los anticuerpos antifosfolipídicos en pacientes con ninguna otra enfermedad autoinmune caracterizan a un SAF primario.

Muchos estudios muestran una correlación entre estos autoanticuerpos y una aumentada incidencia de trombosis, trombocitopenia y abortos habituales (como consecuencia de infarto de placenta). El mecanismo exacto de la inducción de trombosis por parte de los anticuerpos anti-fosfolipídicos patogénicos no ha sido aún revelado.

Principio del test

Las muestras de suero diluidas 1:101 se incuban en la microplaca revestida con el antígeno específico. Los anticuerpos de los pacientes, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por el lavado en el paso siguiente. Después, las inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa (conjugado) se incuban y reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras dentro de la microplaca. El conjugado no unido es retirado a través del lavado en el paso siguiente. La adición del substrato-TMB genera una reacción colorimétrica (azul) enzimática que se detiene a través de ácido diluido (el color cambia a amarillo). La intensidad de formación de color a partir del cromógeno depende de la cantidad de conjugado unida al complejo antígeno-anticuerpo y es proporcional a la concentración inicial de los respectivos anticuerpos en la muestra del paciente.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3206
	Product Desc.	β2-Glyco-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

3 Contenido del equipo

PARA SER RECONSTITUIDO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Tampón de muestra (5x)	1 x 20 ml	Blanco	Amarillo	Concentrado 5 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), a búmerina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Tampón de lavado (50x)	1 x 20 ml	Blanco	Verde	Concentrado 50 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), Tween 20, azida sódica < 0,1 % (conservante)
LISTO PARA EL USO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Control negativo	1 x 1,5 ml	Verde	Incoloro	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Control positivo	1 x 1,5 ml	Rojo	Amarillo	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibrador cut-off	1 x 1,5 ml	Azul	Amarillo	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibradores	6 x 1,5 ml	Blanco	Amarillo *	Concentración de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 UI/ml. Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Conjugado, IgG IgM	1 x 15 ml 1 x 15 ml	Azul Verde	Azul Verde	Contiene: Inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa de rábano picante, albúmina de suero bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15 ml	Negro	Incoloro	Terametilbenzidina estabilizada y peróxido de hidrógeno (TMB/H ₂ O ₂)
Solución de paro	1 x 15 ml	Blanco	Incoloro	Ácido clorhídrico 1M
Placa Microtiter	12 x 8 tiras de pocillos	N/D	N/D	Con tiras rompibles de pocillos. Consulte el párrafo 1 para obtener información sobre revestimiento.
* La intensidad del color aumenta con la concentración				
MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO				
Filtro de lectura de 450 nm para lector de tiras Microtiter y filtro de referencia recomendado de 620 nm (600-690 nm). Equipo de cristal (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensayo para diluciones. Mezclador espiral, pipetas de precisión (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o pipeta múltiple ajustable (100-1000 µl). Dispositivo de lavado de la microplaca (pipeta de repetición o microcanal de 300 µl o sistema automatizado), papel absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4ª ed.).				

4 Almacenamiento y Caducidad

Guarde todos los reactivos y la microplaca a 2-8°C/35-46°F, en sus envases originales. Una vez preparadas, las soluciones reconstituidas son estables durante 1 mes a 2-8°C/35-46°F, por lo menos. Los reactivos y la microplaca deben ser utilizados solamente dentro del margen de caducidad indicado en cada componente. Evite la exposición de la solución TMB a la luz intensa. Guarde las microplacas en su sobre correspondiente, incluyendo el desecante, y séllelo bien.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3206
	Product Desc.	β2-Glyco-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

5 Precauciones

5.1 Datos de riesgo para la salud

ESTE PRODUCTO ES SOLO PARA EL USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO . Por lo tanto, solamente el personal formado y especialmente asesorado en los métodos de diagnóstico in vitro puede realizar el ensayo. Aunque este producto no se considera especialmente tóxico ni peligroso en las condiciones de uso previsto, siga estas recomendaciones para garantizar un nivel de seguridad óptimo:

Recomendaciones y precauciones

Este equipo contiene componentes potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del equipo no están clasificados como irritantes de los ojos y la piel, recomendamos evitar el contacto de los mismos con los ojos y con la piel y utilizar guantes desechables.

¡AVISO! Los calibradores, controles y agentes contienen ázida de sodio (NaN_3) como conservante. El NaN_3 puede ser tóxico si se ingiere o se absorbe por medio de la piel o de los ojos. El NaN_3 puede reaccionar con la fontanería de plomo y de cobre y formar ázida metálica muy explosiva. Al tirar tirarla, deje correr una gran cantidad de agua para evitar que la ázida tome consistencia. Por favor, consulte los procesos de descontaminación del CDC u otras directrices locales o nacionales.

No fume, coma o beba mientras manipule el equipo. No pipetee con la boca.

Todo el material de fuente humana utilizado en algunos reactivos de este equipo (por ejemplo controles, standards) ha sido analizado a través de métodos aprobados y ha resultado ser negativo para HbsAg, Hepatitis C y HIV 1. No obstante, ningún test puede completamente garantizar la ausencia de agentes virales en ese tipo de material. Por lo tanto, manipule los controles, standards y muestras de los pacientes como si se trataran de auténticos transmisores de enfermedades infecciosas y según los requerimientos de manipulación de su país.

Como se indica en la sección Contenido del equipo, el equipo contiene material de origen animal que debe manipularse de acuerdo con la normativa nacional.

5.2 Instrucciones generales para la utilización

En caso de que observe defectos o datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

No mezcle o sustituya Control, Calibradores, Conjugado o microplacas de números de lote diferentes. Esto podría llevar a una variación de los resultados.

Deje que todos los componentes alcancen la temperatura (20-32°C/68-89,6°F) antes de utilizarlos. Agítelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para una óptima realización del ensayo.

Incubación: Se recomienda realizar las pruebas a 30°C/86°F para sistemas automatizados.

No exponga nunca los componentes a temperaturas más altas de 37°C/ 98,6 °F.

Pipetee siempre la solución de substrato con puntas nuevas. Protega este reactivo de la luz. Nunca pipetee el conjugado con puntas previamente utilizadas con otros reactivos.

Un diagnóstico clínico definitivo no debe estar basado solamente en los resultados del ensayo realizado. Debe ser elaborado por el médico después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio. Es necesario verificar el diagnóstico por medio de distintos métodos.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3206
	Product Desc.	β2-Glyco-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

6 Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras

Utilice preferentemente muestras de suero recién extraídas. La extracción de sangre debe seguir los requerimientos de protocolo de su país.

No utilice muestras ictericas, lipemicas, hemolizadas o contaminadas por bacterias. Los sueros con partículas deben ser purificados por centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben ser recogidas en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras de plasma han de utilizarse durante las primeras 8 horas y conservarse herméticamente cerradas a 2-8°C/35-46°F hasta 48 horas o congeladas a -20°C/-4°F durante periodos más prolongados

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de dispensar

Diluya los reactivos concentrados:

Diluya el tampón de muestra concentrado a 1:5 con agua destilada (p.e. 20 ml en 80 ml)

Diluya el tampón de lavado concentrado a 1:50 con agua destilada (p.e. 20 ml en 980 ml).

A fin de evitar errores, es aconsejable marcar las tapas de los distintos calibradores.

Muestras:

Diluya las muestras de suero a 1:101 con tampón de muestra (1x)

p.e. 1000 µl tampón de muestra (1x) + 10 µl suero. Mezcle bien la dilución.

Lavado:

Prepare 20 ml de tampón de lavado diluido (1x) para 8 pocillos o 200 ml para 96 pocillos p.e. 4 ml de concentrado en 196 ml de agua destilada.

Lavado automático:

Tenga en cuenta los volúmenes de exceso requeridos para purgar el instrumento y el volumen muerto en el dispensador del aparato.

Lavado manual:

Descarte el líquido de los pocillos invirtiendo la placa. Golpee vigorosamente el marco con los micropocillos sobre papel absorbente limpio manteniendo la placa invertida. Dispense 300 µl de tampón de lavado diluido dentro de cada pocillo y espere 20 segundos. Repita el procedimiento entero dos veces más.

Microplacas:

Calcule el número de pocillos necesarios para el ensayo. Saque los pocillos no utilizados del marco, póngalos de nuevo en la bolsa de plástico suministrada junto con el desecante y séllela bien (2-8°C/35-46°F).

7.2 Esquema de dispensación

Se sugiere dispensar los calibradores, controles y muestras como sigue:

NOTA: Si se determina el tipo de anticuerpo (IgG o IgM) en paralelo, los calibradores, controles y muestras deberán realizarse por separado para cada tipo de anticuerpo.

	Para una interpretación cuantitativa				Para una interpretación cualitativa			
	1	2	3	4...	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1		A	NC	P2	
B	Cal A	Cal E	P1		B	NC	P2	
C	Cal B	Cal F	P2		C	CC	P3	
D	Cal B	Cal F	P2		D	CC	P3	
E	Cal C	PC	P3		E	PC	...	
F	Cal C	PC	P3		F	PC	...	
G	Cal D	NC	...		G	P1	...	
H	Cal D	NC	...		H	P1	...	

CalA: calibrador A

CalD: calibrador D

PC: positive control

P1: patient 1

CalB: calibrador B

CalE: calibrador E

NC: negative control

P2: patient 2



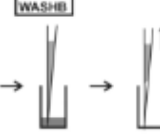
CalC: calibrador C

CalF: calibrador F


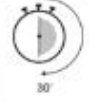
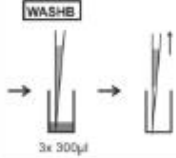


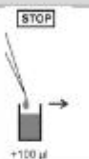

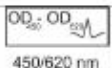
CC: cut-off calibrator

P3: patient 3

7.3 Esquema de trabajo

Paso	Descripción
1.	Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del pipeteado.
2.	Siga los pasos descritos a continuación de acuerdo con los resultados de interpretación cuantitativa y cualitativa que se deseen obtener:
CONTROLES y MUESTRAS	
3.	 <p>Pipetee en los pocillos designados (tal como se describe en el capítulo 7.2) 100 µl de:</p> <ol style="list-style-type: none"> Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interp. CUANTITATIVA o Calibrador cut-off (CC) para interp. CUALITATIVA y 100 µl de cada uno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> Control negativo (CN) y control positivo (CP), y Suero diluido de los pacientes (P1, P2...)
4.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.</p>
5.	 <p>Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).</p>



CONJUGADO	
6.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Pipetee 100 μl de conjugado en cada pocillo.</p> </div> </div>
7.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.</p> </div> </div>
8.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Lave tres veces con 300 μl de tampón de lavado (diluido al 1:50).</p> </div> </div>
SUBSTRATO	
9.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Pipetee 100 μl de substrato TMB en cada pocillo.</p> </div> </div>
10.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F y evite que reciba luz intensa.</p> </div> </div>
PARO	
11.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Pipetee 100 μl de solución de paro en cada pocillo siguiendo el mismo orden que al pipetear el substrato.</p> </div> </div>
12.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Incube durante 5 minutos como mínimo.</p> </div> </div>
13.	<p>Agite la placa suavemente durante 5 seg.</p>
14.	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>Lea la absorbancia a 450 nm (se recomienda 450/620 nm) durante los 30 minutos siguientes.</p> </div> </div>



8 Interpretación Cuantitativa y Cualitativa

Para una **interpretación cuantitativa** establezca la curva standard trazando la densidad óptica (DO) de cada calibrador (eje y) con respecto a los correspondientes valores de concentración en U/ml (eje x). Para unos mejores resultados recomendamos coordenadas log/lin y un ajuste a 4-PL. Partiendo de la DO de cada muestra, lea la correspondiente concentración de anticuerpo expresada en U/ml.

Rango Normal	Indeterminado	Resultados Positivos
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Ejemplo de curva standard

NO utilice este ejemplo para interpretar el resultado del paciente

Calibradores IgG/M	DO 450/620 nm	CV % (Variación)
0 U/ml	0,041	1,7
3 U/ml	0,132	0,0
10 U/ml	0,280	2,6
30 U/ml	0,584	2,1
100 U/ml	1,211	0,0
300 U/ml	2,042	0,6

Ejemplo de cálculo

Paciente	Replicado (DO)	Media (DO)	Resultado (U/ml)
P 01	0,772/0,752	0,757	45,9
P 02	1,058/1,038	1,348	123,3

Las muestras que se encuentren por encima del rango máximo de calibrador se deberán especificar como >Máx. Será necesario diluirlas según se considere apropiado y repetir el ensayo. Las muestras que se encuentren por debajo del rango del calibrador deberán especificarse como < Min.

Para conocer los datos específicos de lote, consulte el documento adjunto de control de calidad. Los laboratorios deberían realizar un Control de Calidad interno utilizando controles propios y/o un „pool“ de sueros interno tal y como contemplan las regulaciones nacionales.

Cada laboratorio debería establecer su rango normal propio basado en sus propias técnicas, controles, equipamiento y población según sus propios procedimientos establecidos.

En caso de que los valores de los controles no se ajusten a los criterios, el ensayo se considerará válido y deberá repetirse.

Será necesario realizar las siguientes comprobaciones de problemas técnicos: Fechas de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, fotómetro, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar los elementos se obtuvieron valores exagerados, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por motivos inexplicables, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.

Para la **interpretación cualitativa** lea la densidad óptica del calibrador cut-off y la de las muestras de los pacientes. Compare las DO de los pacientes con la DO del calibrador cut-off. Para la interpretación cualitativa, recomendamos que establezca un rango del 20% al rededor del valor del cut-off como zona indeterminada. Todas las muestras que tengan DO superior a este rango se consideran positivas y las muestras con valores de DO inferiores a este rango se consideran negativas.:

Negativo	DO paciente	<	0,8 x DO cut-off
Indeterminado	0,8 x DO cut-off	≤	DO paciente ≤ 1,2 x DO cut-off
Positivo	DO paciente	>	1,2 x OD cut-off

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3206
	Product Desc.	β2-Glyco-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

9 Datos Técnicos

Muestra:	suero
Volumen de muestra:	10 µl de muestra diluida a 1:101 con tampón de muestra 1x
Tiempo total de incubación:	90 minutos a temperatura 20-32°C/68-89,6°F
Rango de calibración:	0-300 U/ml
Sensibilidad analítica:	1,0 U/ml
Almacenamiento:	a 2-8°C/35-46°F utilice solo los viales originales
Número de determinaciones:	96 tests

10 Datos de funcionamiento

10.1 Sensibilidad analítica

La prueba del agente de muestra 30 veces en AESKULISA β2 Glyco-GM produjo una sensibilidad analítica de 1,0 U/ml.

10.2 Especificidad y Sensibilidad

La microplaca está revestida con β2-glicoproteína I nativa humana elevadamente purificada. No se encontraron reactividades cruzadas con otros autoantígenos. El equipo AESKULISA β2- Glyco muestra una especificidad diagnóstica del 100%. El equipo AESKULISA β2-Glyco muestra una sensibilidad diagnóstica del 47%.

10.3 Linealidad

Se han analizado con este equipo sueros seleccionados y se encontró que debían diluirse linealmente. No obstante, debido a la naturaleza heterogénea de los autoanticuerpos humanos, pueden haber muestras que no sigan esta regla.

Muestra N°	Factor de dilución	concentración medida (U/ml)	concentración esperada (U/ml)	Recuperación (%)
1	1 / 100	56,9	57,0	99,8
	1 / 200	27,6	28,5	96,8
	1 / 400	13,8	14,3	96,5
	1 / 800	6,9	7,1	97,2
2	1 / 100	98,6	100,0	98,6
	1 / 200	46,8	50,0	93,6
	1 / 400	24,9	25,0	99,6
	1 / 800	12,0	12,5	96,0

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Product Ref.	3206
	Product Desc.	β 2-Glyco-GM
	Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

10.4 Precisión

Para determinar la precisión del ensayo, se valoró la variabilidad (intra e inter-ensayo) a través del análisis de su reproducibilidad en tres muestras de suero. Estas muestras fueron seleccionadas para representar un rango por encima de la curva standard.

Intra-Ensayo		
Muestra N°	Media (U/ml)	CV (%)
1	56,4	3,8
2	75,4	7,9
3	254,0	6,1

Inter-Ensayo		
Muestra N°	Media (U/ml)	CV (%)
1	58,7	4,2
2	82,7	7,7
3	264,4	6,6

10.5 Calibración

AESKULISA β 2-Glyco-GM se ha normalizado utilizando los estándares de Sapporo HCAL para IgG y EY2C9 para IgM. Debido a la no existencia de una calibración de referencia internacional, este ensayo está calibrado en unidades arbitrarias (U/ml).

11 Bibliografía

Schousboe I. (1985): b2-glycoprotein I: a plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation pathway. Blood 66: 1086-1091.






Nimpf J, Bevers EM, Bomans PH, Till U, Wurm H, Kostner GM, Zwaal RF et al. (1986): Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by b2-glycoprotein I. Biochim Biophys Acta 884: 142-149.

Nimpf J, Wurm H, Kostner GM. (1987): β 2-glycoprotein I (apo-H) inhibits the release reaction of human platelets during ADP-induced aggregation.

Harris, E.N., Gharavi, A.E., Boey, M.L., et al. (1983). Anticardiolipin antibodies: Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet Nov 26, 1211-1214.

Galli M, Comfurius P, Maassen C, et al. (1990): Anticardiolipin antibodies directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. Lancet 335: 1544-1547.

Wöhrle R, Matthias T, von Landenberg P, Oppermann M, Helmke K, Förger F (2000). Clinical relevance of antibodies against different phospholipids. Journal of Autoimmunity 15, A60.

IVD	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnostico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnostico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό ηθίο κκιζο
REF	Numero d ordine Référéncie Catalogue Bestellnummer Número de catálogo	Catalogue number Número de catálogo Αριθμός παραγγελίας
LOT	Designazione lotto Lot Chargen Bezeichnung Lote	Lot Lote Χαρτζής αριθμός παραγγελίας
CE	Conformità europea Déclaration CE de Conformité Europäische Konformität Déclaracío CE de Conformidade	EC Declaration of Conformity Declaracío CE de Conformidad Επισημωθή Conformité
	96 determinazioni 96 tests 96 Bestimmungen 96 Testes	96 tests 96 pruebas 96 ποσά δοκιμής κκιζο
	Respetare le istruzioni per l'uso Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten Ver as instrucciones de uso	See instructions for use Ver las instrucciones de uso Παράση οδηγίες χρήσης κκιζο
	Da utilizzarsi entro Utiliser avant le Verwendbar bis Utilizar antes de	Use by Utilizar antes de Χρήση κκιζο
	Conservare a 2-8°C Conservar a 2-8°C Lagerung bei 2-8°C Conservar entre 2-8°C	Store at 2-8°C (35-46°F) Conservar a 2-8°C Φυλάξη κκιζο 2-8°C
	Prodotto da Fabriqué par Hergestellt von Fabricado por	Manufactured by Fabricado por Κομπί, Βιτσόβαρζαμó
CO-CAL	Calibratore cut-off Ealon Seal Grenzwert Kalibrator Calibrator de cut-off	Cut off Calibrator Calibrator de cut-off Όριοθής ποσός Αλκάλιοθής ηθίοθής βάλκκιζο κκιζο
CON +	Controllo positivo Control Positif Positiv Kontrolle Controllo positivo	Positive Control Control Positivo Θυρωθής ποσός επί γρωθ
CON -	Controllo negativo Control Negatif Negativ Kontrolle Controllo negativo	Negative Control Control Negativo Αρνηθής ποσός επί γρωθ
CAL	Calibratore Ealon Kalibrator Calibrator	Calibrator Calibrator Αλκάλιοθής ηθίοθής βάλκκιζο κκιζο
RC	Ricupero Comation Wiederfindung Recuperacío	Recovery Recuperacío Αλκάλιοθής κκιζο
CONJ	Coniugato Coniugé Konjugat Coniugado	Conjugate Coniugado Ευθύνκκιζο
MP	Microplacina rivestita Microplacina sensibilizada Beschichtete Mikrotestplatte Microplaca revestida	Coated microtiter plate Microplaca sensibilizada Επιθωρω κκιζο κκιζο κκιζο
WASHB 50x	Tampone di lavaggio Tampon de Lavage Waschpuffer Solucío de lavagem	Wash buffer Solucío de lavado Πόλυκκιζο θήθιο θήθιο κκιζο κκιζο
SUB	Tampone substrato Substrat Substratpuffer Substrato	Substrate buffer Tampon sustrato Πόλυκκιζο θήθιο θήθιο κκιζο κκιζο κκιζο
STOP	Reagente bloccante Solution d'Arret Stopreagent Solucío de paragem	Stop solution Solucío de parada Αλκάλιοθής ηθίοθής βάλκκιζοθής κκιζοθής κκιζο
SB 5x	Tampone campione Tampon Echantillons Probenpuffer Disuente de amostra	Sample buffer Tampon Muestras Πόλυκκιζο θήθιο θήθιο κκιζο κκιζο θήθιο

EXO 7: Fotografías



Fotografía N1: Charla sobre información acerca del proyecto a realizarse



Fotografía N2: Firma del consentimiento informado e historia clínica.



Fotografía N3: Toma de muestras



Fotografía N 4: Separación de los sueros



Fotografía N 5: Procesamiento de las muestras

