

Reactivo para la Determinación de Anticuerpos IgG contra el Antígeno Nuclear Extraíble SSA

Solo para diagnóstico In Vitro
Para uso exclusivo en laboratorio clínico o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

USO DESTINADO

Para la determinación de anticuerpos IgG contra el antígeno nuclear extraíble (SSA) en suero o plasma humano.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad autoinmune sistémica se caracteriza por la presencia de circulación de auto-anticuerpos dirigidos a una amplia variedad de antígenos celulares. El Lupus eritematoso sistémico (SLE), es la más conocida de estas enfermedades. Otras posibles enfermedades del tejido conectivo incluyen la enfermedad mixta del tejido conectivo (MCTD), síndrome de Sjögren, esclerodermia y la polimiositis/dermatomiositis. La mayoría se puede diagnosticar mediante la presentación clínica y sus perfiles de anticuerpos a los diversos antígenos involucrados, que incluyen dsDNA, SM, RNP, SSA, SSB, Scl-70, Jo1 e Histonas. Por lo tanto, los inmunoensayos de autoanticuerpos son útiles para las evaluaciones de diagnóstico y pronóstico de las enfermedades autoinmunes. El antígeno SSA (Ro), (60kd) y 52 kd polipéptidos complejos con Ro RNAs son detectadas en alrededor del 75% del síndrome de Sjögren primario y secundario, En >90% de lupus cutáneo subagudo y en el síndrome de Sjögren asociado a vasculitis, los anticuerpos SS-A están presentes y son acompañados en 50% por autoanticuerpos SS-B/La. La coexistencia de anticuerpos SSA y SSB probablemente refleja la presencia de estos polipéptidos en la misma partícula y la difusión entre la autoinmunidad a los antígenos propios.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El suero del paciente diluido se añade a los pozos recubiertos con antígeno purificado. Anticuerpos IgG específicos, si están presentes, se unen al antígeno. Si está presente, todos los materiales no unidos son lavados y el conjugado de la enzima se añade para unir con el complejo antígeno-anticuerpo. El exceso de conjugado enzimático se lava y el sustrato se añade. La placa se incuba para permitir la hidrólisis del sustrato por la enzima. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG específicos de la muestra.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba:

1. Tiras de micropozos cubiertos con antígeno SSA (12 x 8)
2. Diluyente de muestra. 1 Frasco
3. Conjugado de la Enzima. 1 Frasco
4. TMB sustrato. 1 Frasco
5. Calibrador. 1 vial
6. Control Positivo. 1 vial
7. Control Negativo. 1 vial
8. Solución de paro. 1 Frasco
9. Concentrado de buffer de lavado 20x. 1 Frasco

Materiales requeridos pero no abastecidos

1. Pipetas de precisión
2. Puntas para pipetas desechables.
3. Agua destilada o desionizada
4. Mezclador Vórtex o equivalente.
5. Papel absorbente o toalla de papel
6. Papel cuadriculado
7. Un lector de MicroElisa.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

1. Materiales con potencial riesgo biológico: El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B, así como anticuerpos contra el HIV con los reactivos con licencia del FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede ofrecer completa seguridad para el HIV, virus de Hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manejados al Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 1984.
2. Este kit está diseñado para uso exclusivo en investigación.
3. Los resultados óptimos se obtienen por el cumplimiento estricto del protocolo de ensayo, pipeteos precisos, así como los tiempos y temperaturas exactas son esenciales.
4. No pipetear con la boca. No fume, coma ni beba en las áreas donde se manipulan las muestras o los reactivos del kit.
5. Los componentes de este equipo deben ser usados como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
6. El control de suero y diluyente de la muestra contienen conservadores con azida de sodio. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando metales de azida explosivos. Para desecharlo, enjuague con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN

1. Colectar muestras de sangre y separar el suero.
2. Las muestras se pueden refrigerarse en 2-8 °C durante un máximo de siete días o congelar hasta por seis meses. Evite repetitivamente congelar y descongelar.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8 °C.
2. Mantenga micropocillos sellados en una bolsa seca con desecantes.
3. Los reactivos son estables hasta el vencimiento del kit.
4. No exponga los reactivos de prueba al calor, el sol o luz intensa.

PREPARACIÓN DE REACTIVO

Prepare 1x de buffer de lavado. Prepare el buffer de lavado al añadir el contenido de la botella (25ml 20x) a 475 mL de agua destilada o desionizada. Almacene a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Lleve todas las muestras y los reactivos del equipo a temperatura ambi-

ente (18-26° C) y mezclar suavemente.

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el soporte.
2. Control negativo, control positivo y calibrador están listos para usarse. Preparar 1:21 diluciones de muestras de prueba, añadiendo 10 µL de la muestra a 200 µL de diluyente de la muestra. mezclar bien.
3. Agregue 100 µL de suero diluido, calibrador y controles en los pozos correspondientes. Para el reactivo blanco, vierta 100 µL de diluyente de la muestra en la posición 1A. Tape el soporte para eliminar las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Quitar el líquido de todos los pozos. Lavar tres veces con 300 µL de amortiguador de lavado 1x. Las manchas quitarlas con papel absorbente o toalla de papel.
5. Agregue 100 µL de conjugado enzimático a cada pozo e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la enzima conjugada de todos los pozos. Lavar tres veces con 300 µL de amortiguador de lavado 1x. Las manchas quitarlas con papel absorbente o toalla de papel.
7. Agregue 100 µL de sustrato de TMB e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Añadir 100 µL de solución de parada.
9. Lea la D.O. a 450 nm utilizando un lector ELISA dentro de los 15 min. Una longitud de onda dual, se recomienda con el filtro de referencia de 600-650 nm.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

1. Compruebe el valor del factor de calibración (CF) en el frasco, este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de verificar el valor de cada equipo.
2. Calcular valor de corte: Calibrador D.O. x Factor de Calibración (CF).
3. Calcular el Ab (anticuerpos) de cada Índice de determinación al dividir los valores medios de cada muestra por valor del punto de corte..

Ejemplo de los resultados típicos:

Media de la D.O. del Calibrador = 0.8

Factor de calibración (CF) = 0.5

Valor de punto-de-corte = $0.8 \times 0.5 = 0.400$

D.O. Control positivo. = 1.2

Índice Ab = $1.2 / 0.4 = 3$

D.O. Muestra Paciente. = 1.6

Índice Ab = $1.6 / 0.4 = 4.0$

CONTROL DE CALIDAD:

La realización de la prueba puede ser considerada válida siempre que se cumplan los siguientes requisitos.

1. La D.O. del calibrador debe ser superior a 0.250.
2. El índice de Ab para el control negativo debe ser inferior a 0.9.
3. El índice de Ab para el control positivo debe ser superior a 1.2.

INTERPRETACIÓN

La siguiente es entendido que pretende ser una guía para la interpretación de los resultados de la prueba de anticuerpos SSA. Cada laboratorio debe establecer sus propios criterios de interpretación de la prueba sobre la base de las muestras poblacionales encontradas.

Índice de Interpretación de anticuerpos

<0.9 No hay anticuerpos detectables al SSA mediante ELISA.

0.9 -1.1 Límite positivo. Se recomiendan pruebas de seguimiento si están clínicamente indicadas

> 1.1 Anticuerpos detectables al SSA mediante ELISA.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Los resultados de la prueba obtenidos con este equipo sirven sólo como una ayuda para el diagnóstico y deben interpretarse en relación al historial clínico del paciente, los hallazgos físicos y otros procedimientos de diagnóstico.
2. Las muestras con lipemia o hemólisis puede provocar resultados erróneos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Sensibilidad y especificidad

Se analizaron 127 sueros de pacientes mediante este SSA IgG ELISA y el método de ELISA de referencia. 25 sueros fueron positivos y 97 fueron negativos por ambos métodos (96% de acuerdo). Los resultados se resumen a continuación:

		SSA IgG ELISA		
		+	-	Total
Kit ELISA Referencia	+	25	3	28
	-	2	97	99
	Total	27	100	127

Precisión

Estudio intra-ensayo

Suero	No. Replicas	Media	SD	CV %
1	16	1.61	0.101	6.2
2	16	0.88	0.062	6.8
3	16	0.2	0.017	8.5

Estudio inter-ensayo

Suero	No. Replicas	Media	SD	CV %
1	10	1.78	0.125	7.0
2	10	0.95	0.088	9.2
3	10	0.22	0.024	10.9

REFERENCIAS

1. Tan, E.M. 1982. Autoantibodies to Nuclear Antigens (ANA): Their Immunobiology and Medicine. *Adv. Immunol.* 33:167-240.
2. Geisler, C. and M. Hoier-Madsen. 1985. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Autoantibodies Against the Nuclear Protein Scl-70. *J. Immuno. Methods.* 80: 211-219.
3. Pollock W, Ban-Hock T. Routine immunofluorescence detection of Ro/SS-A autoantibody using HEp-2 cellstransfected with human 60 kDa Ro/SS-A. *J Clin Path* 1999;52:684-7.
4. Peek R, van Venrooij WJ, Simons F, Pruijn G. The SS-AISS-B autoantigenic complex: localization and assembly. *Clin Exp Rheum* 1994;12:S15-S18.
5. Reichlin M, Scofield RH. SS-A (Ro) autoantibodies. In: *Peter JB, Shoenfeld Y, editors. Autoantibodies. Amsterdam: Elsevier 1996:783-8*
6. Keech CL, Gordon TP, Reynolds p, McCluskey J. Expression and functional conservation of the human La (SS-B) autoantigen in murine celllines. *J Autoimmun* 1993;6:543-55.

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS

1155 CHESS DRIVE No. 121

FOSTER CITY, CA 94404 USA