

**Inmunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de Anticuerpos IgG contra el Antígeno Nuclear Extraíble (SCL-70) en suero o plasma humano.**

**Solo para diagnóstico In Vitro**  
**Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete**  
**Conservar entre 2°C a 8°C**

## NOMBRES COMUNES Y DE PROPIEDAD

Inmunoensayo de la Enzima de SCL-70

## USO DESTINADO

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra el antígeno nuclear extraíble (SCL-70) 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. Anticuerpos Scl-70 IgG reaccionan con la topoisomerasa humana 1 de 100 kd de peso molecular, así como sus fragmentos 70 kd. Anticuerpos Scl-70 IgG están presentes en el 20-40% de los pacientes con esclerodermia difusa y en el 20% de los pacientes con esclerodermia limitada. Los anticuerpos Scl-70 a veces son reportados en clásico SLE sin las características de la esclerodermia, que pueden explicar la inesperada co-existencia de autoanticuerpos marcadores para SLE y esclerodermia. Algunos pacientes con sílica-asociado a la esclerosis sistémica (SSc) tienen anticuerpos Scl-70.

## 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 SCL-70 (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: 2. 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. Este equipo está diseñado para uso de investigación solamente.
4. Los resultados óptimos se obtienen por el cumplimiento estricto del protocolo de ensayo, pipeteos precisos, así como los tiempos y temperaturas exactas son esenciales.
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

1. Traiga todas las muestras y reactivos del equipo de prueba a tem-

- peratura ambiente (18 a 26°C) y mezcle cuidadosamente.
2. 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 ambiente (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. 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 SCL-70 mediante ELISA.

0.9 -1.1 Límite fronterizo positivo. Seguir las pruebas de control, se recomienda si está clínicamente indicado.

> 1.1 Anticuerpos detectables al SCL-70 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.

### REFERENCIAS

1. Hildebrandt S, Weiner ES, Senecal J-L, Noell GS, Earnshaw WC, Rothfield NF. Autoantibodies to topoisomerase I (Scl-70): analysis by gel diffusion, immunoblot, and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Immunol Immunopathol* 1990;57:399-410.
2. Hildebrandt S, Weiner E, Senecal J, et al. The IgG, IgM, and IgA isotypes of anti-topoisomerase I and anticentromere autoantibodies. *Arthritis Rheum* 1990;33:724-7.
3. Steen VD, Powell DL, Medsger TA Jr. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988;31:196-203.
4. Hildebrandt S, Jackh G, Weber S, Peter H-H. A long-term longitudinal isotypic study of anti-topoisomerase I autoantibodies. *Rheumatol Int* 1993;12:321-4.
5. Briggs DC, Vaughan RW, Wejsh KI, Myers A, DuBois RM, Black CM. Immunogenetic prediction of pulmonary fibrosis in systemic sclerosis. *Lancet* 1991;338:661-2.
6. Mukai M, Sagawa A, Atsumi T, et al. 3 cases of anti-Scl-70 (topoisomerase I) antibody associated with central nervous system lupus without renal disorder. *J Rheumatol* 1993;20:91594-7.
7. Stojanov L, Satoh M, Dooley MA, Kuwana M, Jennette JC, Reeves WH. Autoantibodies to topoisomerase I in a patient with systemic lupus erythematosus without features of scleroderma. *Lupus* 1995;4:314-7.
8. Juarez C, Vila JL, Gelpi C, et al. Characterization of the antigen reactive with anti-Scl-70 antibodies and its application in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Arthritis Rheum* 1988;31:108-15.

**Diagnóstica**  
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS

1155 CHESS DRIVE No. 121

FOSTER CITY, CA 94404 USA