

**USO PREVISTO**

El sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA es un ensayo preestandarizado diseñado para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos frente al ADN nativo mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA) y está destinado para su uso diagnóstico *in vitro*.

**RELEVANCIA Y ANTECEDENTES**

Los anticuerpos frente al ácido desoxirribonucleico nativo (ADNn) se encuentran con frecuencia en el suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) espontáneo y en algunos síndromes lúpicos inducidos por fármacos (1-9). La presencia de anticuerpos frente al ADNn es indicativa de LES activo y está estrechamente correlacionada con la aparición de la nefritis lúpica (5, 10-13). La especificidad de los anticuerpos frente al ADNn para el LES es mucho mayor que la que presentan los anticuerpos antinucleares (5, 12). Por tanto, la detección de anticuerpos frente al ADNn proporciona información tanto diagnóstica como pronóstica de gran valor para el diagnóstico diferencial del LES (5, 10-13). La presencia de anticuerpos frente al ADNn en el suero de pacientes con LES conocido se considera un indicador de enfermedad activa recurrente o de respuesta deficiente al tratamiento (5, 13). En consecuencia, la vigilancia periódica de los anticuerpos frente al ADNn en los pacientes con LES permite evaluar la evolución clínica de la enfermedad y su respuesta al tratamiento (5, 10-13). Los anticuerpos frente al ADN se descubrieron en el suero de pacientes con LES hace más de 15 años (1-4). Desde entonces, los anticuerpos frente al ADN se han estudiado mediante diferentes técnicas, como son la difusión en gel (1, 14-15), la fijación del complemento (2, 14 y 16), la aglutinación (17, 18), los análisis rápidos de detección de ADN (13, 19), la radioinmuno electroforesis (20), la contraelectroforesis (21, 22) y la precipitación con sulfato de amonio (10, 23 y 24). La investigación para determinar la especificidad de los anticuerpos frente al ADN ha sido considerable. En la actualidad, se ha demostrado que hay anticuerpos que reaccionan con el ADNn o con el ADN desnaturalizado de cadena simple (ADNs) (8, 12, 14 y 20). Se considera que los anticuerpos frente al ADNn se correlacionan con la actividad clínica de la enfermedad (2, 5, 10 y 25). Además, los anticuerpos frente al ADN se han eluido a partir de los riñones de pacientes con LES y en una publicación se ha demostrado la presencia de complejos ADN-anti-ADN en el suero de pacientes con LES activo (26). Sin embargo, también se han encontrado estos anticuerpos en pacientes con y sin nefritis lúpica activa (27, 28).

El sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA se basa en el uso del cinetoplasto de *Crithidia luciliae* como sustrato, descrito por primera vez por Aarden, *et al* (29). En publicaciones recientes de diferentes investigadores se ha mostrado que este método es una prueba analítica útil para detectar anticuerpos frente al ADN en pacientes con lupus eritematoso sistémico (30-33). En esos estudios también se propone que el sistema de análisis de ADNn mediante IFA es comparable al método de radioinmunoensayo para la detección de anticuerpos frente al ADNn.

**PRINCIPIO DEL ENSAYO**

El sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA es un ensayo preestandarizado de inmunofluorescencia indirecta diseñado para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos frente al ADNn en sueros de pacientes y controles. La reacción se produce en dos pasos:

1. Paso 1: en presencia de anticuerpos frente al ADNn, en una primera etapa se produce una reacción entre estos y el cinetoplasto del sustrato *C. luciliae*.
2. Paso 2: se añade al sustrato inmunoglobulina de cabra antiinmunoglobulina humana marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC). Si el suero del paciente contiene anticuerpos frente al ADNn, se observará una reacción positiva antígeno-anticuerpo fluorescente de color verde manzana al examinar los portaobjetos con el microscopio de fluorescencia. La reacción positiva se reconoce como un marcaje intenso en los cinetoplastos pequeños de *C. luciliae*.

**COMPONENTES DEL SISTEMA DE ANÁLISIS**

**Materiales proporcionados:**

Cada sistema de análisis contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de ensayos indicados en la etiqueta del envase. **NOTA: el conjugado y los controles contienen una combinación de Proclin (0,05 % v/v) y Azida sódica (< 0,1 % p/v) como conservantes. SAVe Diluent® contiene azida sódica (< 0,1 % p/v) como conservante.**

• • •	1. Portaobjetos con el sustrato <i>C. luciliae</i> : diez portaobjetos de 10 pocillos con papel secante.
<b>CONJ</b>	2. Conjugado: inmunoglobulina de cabra antiinmunoglobulina humana marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC). Contiene amortiguador fosfato con BSA y contrarritinación. Un frasco con tapón de color ámbar de 3,5 ml. Listo para usar.
<b>CONTROL</b> +	3. Control positivo (suero humano): se producirá el marcaje positivo de color verde manzana del cinetoplasto en los microorganismos <i>C. luciliae</i> . Un vial con tapón rojo de 0,5 ml. Listo para usar.
<b>CONTROL</b> -	4. Control negativo (suero humano): no se producirá un marcaje detectable del ADNn. Un vial con tapón verde de 0,5 ml. Listo para usar.
<b>DIL</b> <b>SPE</b>	5. SAVe Diluent®: un frasco con tapón verde de 30 ml con solución salina amortiguada con fosfato. Listo para usar. <b>NOTA: el SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.</b>
<b>BUF</b> <b>PBS</b>	6. Solución salina amortiguada con fosfato (PBS): pH 7,2 ± 0,2. Vierta el contenido del envase de amortiguador en un litro de agua destilada o desionizada. Mezcle hasta que todas las sales se hayan disuelto completamente. Cuatro envases, suficiente para preparar 4 litros.
<b>MNTMED</b>	7. Medio de montaje (glicerol amortiguado): dos viales de 3,0 ml con tapón blanco y sistema de goteo.

**NOTAS:**

1. Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de análisis y se pueden utilizar indistintamente con cualquier sistema de análisis ZEUS IFA, siempre y cuando los números de producto sean idénticos: SAVe Diluent® (N.º de producto: FA005CC), medio de montaje (N.º de producto: FA0009S) y PBS (N.º de producto: 0008S).
2. El sistema de análisis también contiene una etiqueta de componente que contiene información específica del lote dentro de la caja del sistema de análisis.

**PRECAUCIONES**

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Siga las precauciones normales empleadas al manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con agua abundante y busque atención médica. Lleve ropa protectora adecuada, guantes y protección ocular o para la cara. No respire los vapores. Elimine los desechos de acuerdo con la legislación local, estatal y federal.
3. Los pocillos del portaobjetos no contienen microorganismos viables. No obstante, deben considerarse como materiales con posible riesgo biológico y manipularse en consecuencia.
4. Los controles son materiales con posible riesgo biológico. Los materiales de los que se derivan estos productos dieron resultado negativo para el antígeno del VIH-1, HBsAg y para los anticuerpos frente al VHC y VIH mediante métodos de análisis aprobados. No obstante, puesto que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía completa de ausencia de agentes infecciosos, estos productos se deben manipular con un nivel de bioseguridad 2, según lo recomendado para cualquier muestra de suero o sangre de origen humano potencialmente infecciosa se en el manual de los Centros para el Control de las Enfermedades (Centers

for Disease Control)/y los Institutos Nacionales de Salud (National Institutes of Health) "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories": edición actual; y Norma de la OSHA para patógenos transmitidos por la sangre (20).

- Para unos resultados precisos es esencial cumplir las condiciones de tiempo y temperatura de incubación que se especifican. **Se debe dejar que todos los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente (20-25°C) antes de iniciar el ensayo.** Devuelva los reactivos sin usar a sus envases originales inmediatamente y siga los requisitos de conservación.
- El lavado no adecuado puede ocasionar resultados falsos positivos o falsos negativos. Asegúrese de minimizar la cantidad residual de PBS secándolo antes de añadir el conjugado. No permita que los pocillos se sequen entre las incubaciones.
- El SAVE Diluent®, el conjugado y los controles contienen azida sódica a una concentración < 0,1 % (p/v). Se ha notificado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las tuberías del laboratorio, que pueden explotar al golpearlas con un martillo. Para evitar este riesgo, enjuague bien el fregadero con agua tras eliminar la solución que contenga azida sódica. Este conservante puede ser tóxico si se ingiere.
- La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
- No pipetee nunca con la boca. Evite el contacto de los reactivos y de las muestras de los pacientes con la piel y las mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Se pueden obtener resultados incorrectos.
- La contaminación cruzada de los reactivos y/o de las muestras podría provocar resultados erróneos.
- Los utensilios de vidrio reutilizables se deben lavar bien sin usar detergentes.
- Evite las salpicaduras o la generación de aerosoles.
- No exponga los reactivos a la luz potente durante su conservación o incubación.
- Permitir que el envase con los portaobjetos se estabilice a temperatura ambiente antes de abrir la envoltura protectora protegerá los pocillos y el papel secante frente a la condensación.
- Recoja la solución de lavado en un recipiente de desecho. Trate la solución residual con desinfectante (es decir, lejía de uso doméstico al 10 % o hipoclorito sódico al 0,5 %). Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
- No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía ni a ningún olor fuerte procedente de soluciones que contengan lejía. Restos mínimos de lejía (hipoclorito sódico) pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos del sistema de análisis.
- No presione la envoltura de los portaobjetos, ya que podría dañar el sustrato.
- Los componentes de este sistema de análisis se han combinado para obtener una sensibilidad y reproducibilidad óptimas. No deben intercambiarse con reactivos de otros fabricantes. Siga con atención el prospecto de envase.
- Los componentes sin abrir/abierto son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, siempre que se sigan estrictamente las condiciones de conservación recomendadas. No utilizar el producto después de la fecha de caducidad. No congelar.
- La contraindicación de Azul de Evans es un posible carcinógeno. Lavar con agua si se produce contacto con la piel. Eliminar de acuerdo con la normativa local.
- No deje que los portaobjetos se sequen durante el procedimiento. Dependiendo de las condiciones ambientales del laboratorio, puede ser necesario colocar los portaobjetos en una cámara húmeda durante las incubaciones.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipetas pequeñas para serología, Pasteur, capilares o automáticas.
- Puntas de pipeta desechables.
- Tubos de ensayo pequeños, Aq113 x 100 mm o equivalentes.
- Gradillas para tubos de ensayo.
- Plato de tinción: un plato de tinción grande con un pequeño sistema de mezcla magnética proporciona un mecanismo ideal para lavar los portaobjetos entre los pasos de incubación.
- Cubreobjetos, 24 x 60 mm, grosor n.º 1.
- Agua destilada o desionizada.
- Microscopio de fluorescencia adecuadamente equipado.
- Probeta graduada de 1 litro.
- Temporizador de laboratorio para vigilar los pasos de incubación.
- Recipiente de desechos y desinfectante (es decir: lejía doméstica al 10 % o hipoclorito sódico al 0,5 %).

Se ha observado que los siguientes sistemas de filtrado (o sus equivalentes) son satisfactorios para el uso habitual con montajes de campo oscuro con luz incidente o transmitida:

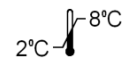
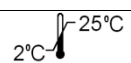
Luz transmitida			
Fuente de luz: vapor de mercurio de 200 W o 50 W			
Filtro de excitación	Filtro de barrera	Filtro de supresión del rojo	
KP490	K510 o K530	BG38	
BG12	K510 o K530	BG38	
FITC	K520	BG38	
Fuente de luz: halógena de tungsteno de 100 W			
KP490	K510 o K530	BG38	
Luz incidente			
Fuente de luz: vapor de mercurio de 200, 100 o 50 W			
Filtro de excitación	Espejo dicróico	Filtro de barrera	Filtro de supresión del rojo
KP500	TK510	K510 o K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38
Fuente de luz: halógena de tungsteno de 50 y 100 W			
KP500	TK510	K510 o K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38

### RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

- ZEUS Scientific recomienda que el usuario recoja las muestras de acuerdo con el documento M29 de CLSI: Protección de los trabajadores de laboratorio contra enfermedades infecciosas adquiridas en el trabajo (Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infectious Diseases). Ningún método de análisis conocido ofrece una garantía total de que las muestras de sangre humana no transmitan infecciones. Por tanto, todos los derivados de la sangre se deben considerar como potencialmente infecciosos.
- Para este ensayo, utilice solamente suero recién extraído y refrigerado de forma adecuada, obtenido mediante procedimientos de venopunción aprobados (34, 35). No se deben añadir anticoagulantes ni conservantes. Evite el uso de sueros hemolizados, lipémicos o bacteriológicamente contaminados.
- Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un máximo de 8 horas. Si el análisis no se realiza en un plazo de 8 horas, el suero puede conservarse a entre 2-8 °C, durante un máximo de 48 horas. Si se espera un retraso en la realización del ensayo, conserve el suero a analizar a -20 °C o a una temperatura inferior. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que podrían causar la pérdida de la actividad de los anticuerpos y proporcionar resultados erróneos.

Es responsabilidad de cada laboratorio utilizar todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para dicho laboratorio (37).

### CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

	Sistema de análisis sin abrir.
	Medio de montaje, conjugado, SAVe Diluent®, portaobjetos, controles positivos y negativos.
	PBS rehidratado (estable durante 30 días).
	Envases de solución salina amortiguada con fosfato (PBS).

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Extraiga los portaobjetos del envase refrigerado y deje que se estabilicen a temperatura ambiente (20-25 °C). Abra rasgando la envoltura protectora y extraiga los portaobjetos. **No presione las caras planas de la envoltura protectora.**
- Identifique cada pocillo con el suero del paciente apropiado y con los controles. **NOTA: los controles se utilizan sin diluir.** Prepare una dilución 1:10 (p. ej., 10 µl de suero + 90 µl de SAVe Diluent® o PBS) de cada suero de paciente. **El SAVe Diluent® cambiará de color, confirmando que la muestra se ha combinado con el diluyente.**  
**Opciones de dilución:**
  - Los usuarios pueden titular el control positivo al punto final para que sirva como un control semicuantitativo (1+, mínimamente reactivo). En tales casos, el control debe diluirse dos veces en SAVe Diluent® o PBS. Cuando se evalúa mediante el análisis de ZEUS Scientific, se establece una dilución a punto final y se rotula en el vial del control positivo (± una dilución). Debe tenerse en cuenta que, debido a variaciones propias de cada laboratorio (equipo, etc.), estos deben establecer su propio título de punto final esperado para cada lote de control positivo.
  - Cuando se titulan las muestras de pacientes, las diluciones iniciales y todas las posteriores solamente se deben preparar en SAVe Diluent® o PBS.
- Con un dispensador adecuado (indicado anteriormente), dispense 20 µl de cada uno de los sueros control y cada uno de los sueros diluidos en los pocillos apropiados.
- Incuba los portaobjetos a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 30 minutos.
- Enjuague con cuidado los portaobjetos con PBS. **No dirija el chorro de PBS a los pocillos de análisis.**
- Lave los portaobjetos durante dos intervalos de 5 minutos, cambiando el PBS entre los lavados.
- Retire los portaobjetos del PBS de uno en uno. Invierta el portaobjetos y encaje los pocillos con los orificios del papel secante que se proporciona. Seque el portaobjetos pasando un paño absorbente por el reverso del mismo. **PRECAUCIÓN: coloque el papel secante y el portaobjetos sobre una superficie lisa y dura. Secar con papel secamanos puede destruir la matriz del portaobjetos. No deje que los portaobjetos se sequen durante el análisis.**
- Añada 20 µl de conjugado a cada pocillo.
- Repita los pasos 4 a 7.
- Añada entre 3 y 5 gotas de medio de montaje a cada portaobjetos (entre los pocillos) y a cada cubreobjetos. Examine los portaobjetos inmediatamente con un microscopio de fluorescencia apropiado.

**NOTA: si se espera un retraso a la hora de examinar los portaobjetos, selle el cubreobjetos con laca de uñas transparente y consérvelos en el frigorífico. Se recomienda examinar los portaobjetos el mismo día de su análisis.**

### CONTROL DE CALIDAD

- Cada vez que se realiza un análisis, se debe incluir un control positivo, un control negativo y un control con amortiguador.
- Se recomienda que se lean los controles positivo y negativo antes de evaluar los resultados del análisis. Esto ayudará a establecer las referencias necesarias para interpretar la muestra analizada. Si los controles no tienen el aspecto descrito, los resultados no son válidos.
  - Control negativo: se caracteriza por la ausencia de tinción fluorescente del cinetoplasto. La tinción del núcleo solamente y/o la tinción del cuerpo basal se deben interpretar como un análisis negativo.
  - Control positivo: se caracteriza por una tinción fluorescente del cinetoplasto de color verde manzana. La tinción del cuerpo basal **junto con** el cinetoplasto se debe considerar un resultado positivo.
- Se pueden analizar controles adicionales de acuerdo con las directrices o requisitos de la normativa local, estatal y/o federal o con las organizaciones de acreditación.

#### NOTAS:

- La intensidad de la fluorescencia observada puede variar con el microscopio y con el sistema de filtros utilizado.**
- El cinetoplasto se suele localizar más cerca del cuerpo basal que el núcleo. No obstante, debido a la naturaleza fluida del endoplasma, la ubicación del cinetoplasto puede variar de una célula a otra (36).**
- Lea solamente microorganismos únicos y bien definidos en cada campo. No todos los microorganismos serán óptimos. Su morfología puede variar a causa de la fijación, sus fases de crecimiento y/o su orientación en el portaobjetos al secarse (36).**

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Los títulos menores de 1:10 se consideran negativos.
- Ensayo positivo: cualquier tinción verde manzana observada en el cinetoplasto pequeño del microorganismo sustrato *C. luciliae*, a una dilución 1:10 de acuerdo con una escala 1+ a 4+. El valor 1+ se considera una reacción débil y el 4+ una reacción fuerte. Todos los sueros positivos a 1:10 se deben titular a la dilución de punto final. Esto se consigue haciendo las diluciones seriadas 1:10, 1:20, 1:40, etc. de todos los positivos. El punto final es la dilución más alta que produce una reacción positiva.
- La tinción de manera simultánea tanto del cinetoplasto pequeño como del núcleo mayor adyacente de *C. luciliae* se debe interpretar como un análisis positivo.
- La tinción polar en la base de los flagelos no es significativa.
- La tinción solamente del núcleo no se debe interpretar como un análisis positivo.

**NOTA: se puede producir un fenómeno prozona en diluciones bajas de suero de pacientes. Se sugiere repetir el análisis de la muestra del paciente a una dilución superior (es decir, 1:40 o 1:80) cuando se sospeche de la presencia de este fenómeno.**

### LIMITACIONES DEL ENSAYO

- El sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA es una ayuda diagnóstica. Por tanto, es necesario que un profesional médico interprete los resultados de los anticuerpos frente al ADNn teniendo presente la situación clínica del paciente.
- Los resultados del análisis pueden ser negativos en pacientes con LES que reciban corticosteroides (5, 8 y 9).
- Algunos fármacos, en especial la hidralazina, pueden inducir la producción de anticuerpos frente al ADNn (5, 6 y 8).

### RESULTADOS ESPERADOS

Los valores esperados en una población normal son negativos a una dilución inicial de 1:10. No obstante, ciertos fármacos pueden inducir un resultado positivo frente al ADNn (5, 6).

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA se ha evaluado en paralelo con un procedimiento de análisis de ANA de referencia empleando hígado de rata como sustrato. Se volvieron a analizar cincuenta y dos (52) sueros positivos para ANA obtenidos de pacientes con diferentes diagnósticos, incluido el LES, con el sistema de análisis de ADNn de IFA. La tabla siguiente resume los resultados comparativos de ANA y ADNn.

Resumen del estudio comparativo del sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA: ANA frente a ADNn en diferentes enfermedades			
Número de pacientes	Diagnóstico	Número de positivos para ANA	Número de positivos para ADNn
11	Lupus sistémico	11	9
8	Hipertensión o uremia	8	0
3	Esclerodermia	3	0
4	Artritis reumatoide	4	0
1	Síndrome de Sjogren	1	0
5	Cirugía a corazón abierto	5	0
20	Otros o sin diagnóstico	20	0
52*		52*	9*

\*Los datos presentados en la tabla anterior demuestran la especificidad relativa del análisis de ADNn para el lupus eritematoso sistémico. De los 11 pacientes con diagnóstico de LES, 9 presentaban nefritis lúpica en estadio agudo según se determinó al evaluar la biopsia renal. Los dos pacientes con LES con resultado negativo en el análisis de anticuerpos frente al ADNn no presentaban enfermedad renal. Ninguno de los pacientes restantes con otras enfermedades presentaba anticuerpos frente al ADNn en su suero, aunque los 41 tenían títulos de ANA positivos desde 1:40 hasta 1:40 000.

**Especificidad:** el sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA es capaz de detectar anticuerpos IgG, IgA e IgM de acuerdo con la difusión en gel y el análisis inmunolectroforético del conjugado de inmunoglobulinas anti-inmunoglobulinas humanas marcadas con FITC.

**Estudio de interferencia:** se realizó una investigación para evaluar la posible influencia de las sustancias que se suele encontrar que interfieren en el sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA. Esta investigación se llevó a cabo utilizando información procedente del documento EP7-A2 de la CLSI sobre Análisis de interferencia en química clínica: directrices aprobadas, segunda edición (*Interference Testing in Clinical Chemistry – Approved Guideline, Second Edition*) como orientación. En resumen, se obtuvieron tres muestras de suero. Las muestras se podían clasificar del siguiente modo: negativas para ADNn (~1 UI/ml), positivas bajas para anticuerpo frente a ADNn (~200 UI/ml) y positivas altas para anticuerpo frente a ADNn (~1000 UI/ml). Se añadieron sustancias interferentes a cada una de las tres muestras de suero, a dos concentraciones diferentes (alta y baja). Para valorar las sustancias añadidas se prepararon controles de matriz. Las sustancias interferentes utilizadas y las cantidades añadidas son las siguientes:

Interferente	Alto	Bajo	Matriz
Albumina (humana)	50 mg/ml	35 mg/ml	Suero
Bilirrubina	0,15 mg/ml	0,01 mg/ml	Suero – PBS al 10 %
Colesterol	2,5 mg/ml	1,5 mg/ml	Suero con etanol al 10 %
Hemoglobina	200 mg/ml	100 mg/ml	Suero
Intralipids	7,5 mg/ml	3 mg/ml	Suero
Triglicéridos	5 mg/ml	1,5 mg/ml	Suero con etanol al 10 %

Los resultados del estudio mostraron que no había ningún efecto en la interpretación de las muestras. Por tanto, no hay riesgo de que el sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA ofrezca resultados erróneos debido a la presencia de las sustancias interferentes analizadas aquí.

**Estudio de reactividad cruzada:** se realizó una investigación para evaluar otros autoanticuerpos encontrados con frecuencia para determinar su potencial de reacción cruzada con el sustrato del sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA. Se compraron cinco muestras positivas para cada uno que tuviesen niveles significativos de autoanticuerpo IgG para los siguientes autoantígenos: centrómero, SSA, SSB, Jo-1 y Scl-70. Estas 25 muestras de suero se analizaron en el sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA y las 25 muestras dieron resultados negativos. Este estudio indica la ausencia de reacciones cruzadas con el sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA a partir de otros autoanticuerpos frecuentes.

**Límites de detección:** en el momento de la investigación, ya no se encontraba disponible el patrón de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de ADNdc (sin/80). En ausencia de este patrón, se utilizó una muestra de suero positiva para ADNdc bien caracterizada para establecer el LdD. Esta muestra se evaluó exhaustivamente con un inmunoensayo de ADNdc aprobado por la FDA con unidades de UI/ml. Se encontró que contenía ~3000 UI/ml de anticuerpo frente a ADNdc. Utilizando esta muestra, se determinó que el LdD del sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA era de 8,33 UI/ml.

**Reproducibilidad con el mismo lote:** este estudio se realizó utilizando un lote del sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA. Se adquirieron tres muestras de diferentes niveles de reactividad. Representaban una muestra negativa (~1 UI/ml), una muestra positiva moderada (~200 UI/ml) y una muestra positiva fuerte (~1000 UI/ml). Cada muestra se analizó en 10 pocillos (réplicas) del portaobjetos de IFA. Los resultados de este estudio se resumen en la tabla siguiente:

Las 10 réplicas del suero con un valor positivo alto (1000 UI/ml) dieron un resultado de 4+.
Las 10 réplicas del suero con un valor positivo moderado (200 UI/ml) dieron un resultado de 2+.
Las 10 réplicas del suero negativo (1 UI/ml) permanecieron negativas.

**Reproducibilidad entre lotes:** este estudio se realizó utilizando tres lotes diferentes del sistema de análisis de ADNn ZEUS IFA. Se adquirieron tres muestras de diferentes niveles de reactividad. Representaban una muestra negativa (~1 UI/ml), una muestra positiva moderada (~200 UI/ml) y una muestra positiva fuerte (~1000 UI/ml). Cada muestra se analizó por duplicado del portaobjetos de IFA, una vez al día durante cinco días. Los resultados de este estudio se resumen en la tabla siguiente:

N.º de lote	Duplicado	Suero positivo alto					Suero positivo medio					Suero negativo				
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Lote 1-16050011	Dupl. (1)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0
	Dupl. (2)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0
Lote n.º 2-16050012	Dupl. (1)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	3+	3+	0	0	0	0	0
	Dupl. (2)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	3+	3+	0	0	0	0	0
Lote n.º 3-16050058	Dupl. (1)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0
	Dupl. (2)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0

Los resultados del ADNn de los experimentos dentro del mismo lote y entre lotes o en diferentes días cumplen los correspondientes criterios de aceptación definidos anteriormente. Por tanto, se demuestra que el sistema de análisis mediante IFA de ADNn produce resultados altamente reproducibles tanto dentro del lote como entre lotes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Robbins WC, Holman HR, Deicher HRG, *et al*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:575, 1957.
2. Seligman M: Cr. Acad. Sci. (Paris), 245:243, 1957.
3. Ceppellini R, Polli E, Celada F: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:572, 1957.
4. Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG: J. Exp. Med. 109:97, 1959.
5. Dubois EL: J. Rheumatol. 2:204, 1975.
6. Epstein WV: J. Rheumatol. 2:215, 1975.
7. Blomgren SE: Seminars Hematol. 10:345, 1973.
8. Alarcon-Segovia D, Fishbein E: J. Rheumatol. 2:167, 1975.
9. Klajman A, Farkas R, Gold E, Ben-Efraim S: Clin. Immunol. Immunopath. 3:525, 1975.
10. Pincus T, Schur PH, Rose JA: N. Engl. J. Med. 281:701, 1969.
11. Koffler D, Carr RI, Agnello V, *et al*: Science 166:1648, 1969.
12. Gershwin ME, Steinberg AD: Arthritis. Rheum. 17:947, 1974.
13. Casals SP, Friou GJ, Myers LI: Arthritis. Rheum. 7:379, 1964.
14. Arana R, Seligmann M: J. Clin. Invest. 46:1867, 1967.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RI, *et al*: J. Clin. Invest. 45:1732, 1966.
16. Stollar D, Levine L, Leher HI, *et al*: Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 48:874, 1962.
17. Bosicevich J, Nasou JP, Kayhoe DE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:636, 1960.
18. Jokinen EJ, Julkunen H: Ann. Rheum. Dis. 24:477, 1965.
19. Matrer R, Helgeland SM, Tonder O: J. Immunol. Methods 5:345, 1974.
20. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: Clin. Exp. Immunol. 3:641, 1968.
21. Davis JS, IV: Arthritis. Rheum. 14:377, 1971.
22. Johnson GD, Edmonds JP, Holbrow EJ: Lancet 2:883, 1973.
23. Wold RT, Young FE, Tan EM, *et al*: Science 161:806, 1968.
24. Farr Rd: J. Infect. Dis. 103:239, 1958.
25. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG: J. Exp. Med. 126:607, 1967.
26. Harbeck RJ, Bardana EJ, Kohler PF, *et al*: J. Clin. Invest. 52:789, 1973.
27. Cohen SA, Hughes GRV, Noel GL, *et al*: Clin. Exp. Immunol. 8:551, 1971.
28. Natali PG, Tan EM: J. Clin. Invest. 51:345, 1972.
29. Aarden LA, deGroot ER, Feltkemp EW: Ann. NY Acad. Sci. 254:505, 1975.
30. Slater NGP, Cameron JS, and Lessof MH: Clin. Exp. Immunol. 25:480, 1976.
31. Stingl G, Meingassner JG, Swelty P, *et al*: Clin. Immunol. Immunopath. 6:131, 1976.
32. Davis P, Christian B, and Russel AS: J. Rheumatol. 4:15, 1977.
33. Tourville DR, and Benn V: Microbiological Proceeding, 1977.
34. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
35. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
36. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
37. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4<sup>th</sup> Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



**ZEUS Scientific, Inc.**

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, EE. UU.

Número gratuito (EE. UU.): 1-800-286-2111, Opción 2

Internacional: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Página web: [www.zeusscientific.com](http://www.zeusscientific.com)

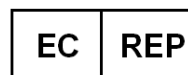
ZEUS IFA y SAVE Diluent® son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.

Para el Servicio de Atención al Cliente en EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local.

Para el Soporte Técnico en EE. UU., póngase en contacto con ZEUS Scientific, llamando al número gratuito o enviando un correo electrónico a [support@zeusscientific.com](mailto:support@zeusscientific.com).

Para consultas al Servicio de Atención al Cliente y al Soporte Técnico en otros países, póngase en contacto con su distribuidor local.

©2019 ZEUS Scientific, Inc. Todos los derechos reservados.



**EMERGO EUROPE**  
Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague  
The Netherlands