

INSTRUCCIONES DE USO

**ES****Anti-SSB(La)****REF****2Z2821G
SM2Z2821G****IVD****Rx Only**

APLICACIÓN

El Anti-SSB(La) es un inmunoensayo semicuantitativo para la detección de anticuerpos de tipo IgG frente a SSB en suero humano. Cuando se realiza conforme a estas instrucciones, los resultados de este ensayo pueden ayudar al diagnóstico y tratamiento de trastornos autoinmunes del tejido conectivo. Esta prueba es para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

En años recientes, se ha hecho evidente que los autoanticuerpos contra un número de constituyentes nucleares han probado ser útiles en el diagnóstico de varias enfermedades del tejido conectivo. El autoanticuerpo Jo-1 es uno de una familia de autoanticuerpos característicos observados en los pacientes con miositis (19). Los científicos también los encuentran específicamente en pacientes con miositis, y los asocian con una alta incidencia de enfermedad pulmonar intersticial concomitante (10). Los médicos consideran que los anticuerpos dirigidos contra el marcador Sm son un criterio diagnóstico para el LES debido a su alta especificidad por los pacientes con LES (1, 2). La sola presencia de un nivel elevado de anticuerpos anti-RNP se considera diagnóstica de enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) y generalmente se asocia con una enfermedad de curso más benigno (3), mientras que se pueden observar niveles bajos de anticuerpos anti-RNP, conjuntamente con otros autoanticuerpos, en el suero de pacientes con esclerosis sistémica progresiva, Síndrome de Sjögren, y artritis reumatoide. La presencia de anticuerpos anti-RNP en el suero de pacientes con LES generalmente se asocia con una incidencia menor de daño renal y una enfermedad de curso más benigno. Por el contrario, los pacientes con anticuerpos anti-Sm experimentan una frecuencia más elevada de complicaciones renales y del sistema nervioso central (4). Se han llevado a cabo estudios en los que se han observado autoanticuerpos dirigidos contra SSA y SSB en pacientes con LES (5, -6), y enfermedad de Sjögren (7, -9). Los anticuerpos anti-SSA frecuentemente están presentes en el suero de pacientes con LES que son negativos para AAN, tales como los que padecen lupus eritematoso cutáneo subagudo (12), un síndrome parecido al lupus asociado con una deficiencia homocigota de C2 (13), y en un subgrupo de pacientes que carecen de anticuerpos anti-ADNdf (11). Los anticuerpos anti-Scl-70 son altamente específicos para la esclerodermia (11). Las investigaciones también muestran estos anticuerpos en una minoría de los pacientes con LES. Los pacientes con esclerodermia, positivos para Scl-70 tienden a tener una enfermedad de curso más severo, más complicaciones de órganos internos y complicaciones considerablemente más difusas que limitadas al área de la piel (14). Los científicos raramente encuentran anticuerpos anti-Scl-70 en otras enfermedades autoinmunes, y por lo tanto, su detección en un paciente con inicio reciente de fenómeno de Raynaud, es altamente significativa (15). La Tabla 1 resume los diferentes autoanticuerpos mencionados anteriormente, relacionados con la enfermedad a la cual se asocian (16):

Anticuerpo	Estado de la enfermedad	% de frecuencia relativa de detección de anticuerpo
Anti-Jo-1	Miositis	25 - 44% (19)
Anti-Sm	LES	30*
Anti-RNP	MCTD, LES	100** y >40, respectivamente
Anti-SSA (Ro)	LES, Sjögren	15 y 30 - 40, respectivamente
Anti-SSB (La)	LES, Sjögren	15 y 60 - 70, respectivamente
Anti-Scl-70	Esclerosis sistémica	20 - 28*

* Altamente específico

** Altamente específico cuando se presenta solo y con título alto.

La frecuencia relativa de estos autoanticuerpos asociados con LES y otras enfermedades del tejido conectivo, ya sea individualmente o como múltiples autoanticuerpos, requiere una evaluación del perfil de autoanticuerpos del suero de cada paciente para obtener el mayor grado de relevancia clínica en el procesamiento en laboratorio de estos tipos de pacientes. Hasta hace poco, las pruebas de autoanticuerpos se hacían individualmente por inmunofluorescencia indirecta, difusión en gel de Ouchterlony, hemaglutinación, radioinmunoensayo o ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Se desconoce la etiología exacta de las enfermedades autoinmunes, y no está claro el papel específico que desempeñan los autoanticuerpos en el inicio de varias enfermedades autoinmunes del tejido conectivo.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA


El Anti-SSB(La) está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgG contra SSB en suero humano. La creación de los pocillos sensibilizados de las tirillas de micropocillos de plástico se llevó a cabo mediante adsorción pasiva con antígeno SSB. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

1. Los sueros de la prueba (debidamente diluidos) se incuban en micropocillos revestidos de antígeno. Los anticuerpos contra antígeno específico que existan en la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. La placa se lava para eliminar el anticuerpo no fijado y otros componentes séricos.
2. Se agrega anti-IgG humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuban la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo específico inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no haya reaccionado.
3. Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): controles, calibrador y SAVe Diluent®.**


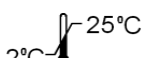
Componente del kit	Cantidad	Descripción
		
PLATE	1	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con el antígeno desactivado. Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
CONJ	1	Conjugado: anti-IgG humana (específica de la cadena Fc) de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Frasco de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
CTRL +	1	Control positivo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón rojo. Concentrado 21X.
CAL	1	Calibrador (suero humano): vial de 0,5 ml con tapón azul. Concentrado 21X.
CTRL -	1	Control negativo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón verde. Concentrado 21X.
DIL SPE	1	Diluyente SAVe Diluent®: frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato, (pH 7,2 ± 0,2). Listo para usar. NOTA: El diluyente SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.
SOLN TMB	1	TMB: frasco de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
SOLN STOP	1	Solución para detener la reacción: frasco de 15 ml con tapón rojo con H2SO4 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
WASH 10X	1	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Frasco de 100 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X y Tween 20 (solución azul). NOTA: la solución 1X tendrá un pH de 7,2 ± 0,2.

NOTA: Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS: TMB, solución para detener la reacción y tampón de lavado. El diluyente SAVe Diluent® se puede usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS utilizando el n.º de producto 005CC.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Lector de micropocillos ELISA capaz de leer a una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Se podrá usar un lector de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 - 650 nm). Es preferible la longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
2. Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
3. Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
4. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
5. Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
6. Agua destilada o desionizada.
7. Probeta graduada de un litro.
8. Pipetas serológicas.
9. Puntas de pipeta desechables.
10. Toallas de papel.
11. Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
12. Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	<p>Tirillas de micropocillos revestidos: vuelva a sellar inmediatamente las tirillas sobrantes con el secante y devuélvalas al lugar adecuado de almacenamiento. Una vez abiertas, las tirillas son estables durante 60 días siempre y cuando las tirillas indicadoras del envase del desecante permanezcan de color azul.</p> <p>Conjugado: NO CONGELAR.</p> <p>Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente SAVe Diluent® sin abrir</p>
	<p>Solución para detener la reacción: 2 - 25°C</p> <p>Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25°C o durante 30 días entre 2 y 8°C.</p> <p>Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C</p>

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. Los micropocillos de la placa ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, considere las tirillas **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelas de manera acorde.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (20).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo.** Los reactivos no utilizados deben devolverse a temperatura de refrigeración inmediatamente después de su uso.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado o el sustrato. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVe Diluent®, los controles, y el calibrador contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha descrito la formación de azidas de plomo o cobre a partir de la azida de sodio en tuberías de laboratorio, lo cual puede causar explosiones al martillar las tuberías. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.

8. La solución para detener la reacción es TÓXICA por inhalación, por contacto con la piel o en caso de ingestión. Provoca quemaduras. En caso de accidente o si se siente mal, solicite asistencia médica inmediatamente.
9. La solución de TMB es NOCIVA. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
10. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
11. Limpie el fondo de la placa de todo residuo de líquido o huellas de los dedos que puedan alterar las lecturas de la densidad óptica (DO).
12. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
13. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
14. La solución de TMB debe ser incolora o de color amarillo muy claro, verde muy claro o azul muy claro al utilizarla. La contaminación de TMB con el conjugado u otros oxidantes hará que la solución cambie de color prematuramente. No utilice la solución de TMB si tiene un color azul intenso.
15. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
16. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
17. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
18. Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
19. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
20. No esponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.
21. Permita que las tirillas de micropocillos y su soporte alcancen la temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector, a fin de evitar la condensación en los micropocillos.
22. Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
23. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
24. No utilice la placa ELISA si la tirilla indicadora del sobre de desecante ha cambiado de azul a rosado.
25. No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
26. No esponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (17, 18). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
4. Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8 ° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 ° C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del laboratorio individual usar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (21).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).
2. Determine el número de micropocillos necesarios. Calcule seis determinaciones de control o calibrador (un blanco de reactivo, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por serie. En cada prueba se debe analizar un blanco de reactivo. Compruebe que las configuraciones de controles y calibrador sean correctas en los requisitos del programa y del lector. Devuelva las tirillas no usadas a la bolsa resellable con desecante, séllela y devuélvala a su almacenamiento entre 2 y 8 °C.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA	
1	2

A	Blanco	Paciente 3
B	Control negativo	Paciente 4
C	Calibrador	etc.
D	Calibrador	
E	Calibrador	
F	Control positivo	
G	Paciente 1	
H	Paciente 2	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente SAVe Diluent®) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: el diluyente SAVe Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.**
4. A cada micropocillo se añaden 100 µl de cada control diluido, calibrador y muestra de paciente. Compruebe que las muestras estén bien mezcladas. Utilice una punta de pipeta diferente para cada muestra.
5. Añada 100 µl de diluyente SAVe Diluent® al micropocillo A1 como blanco de reactivo. Compruebe que la configuración del micropocillo del blanco de reactivo sea correcta en los requisitos del programa y del lector.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.
 - a. **Procedimiento de lavado manual:**
 1. Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
 2. Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
 3. Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.
 4. Agite la placa para eliminar la solución de lavado de todos los micropocillos. Invierta la placa sobre una toalla de papel y dele unos golpes secos para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos. Inspeccione visualmente la placa para asegurarse de que no queden residuos de la solución de lavado. Recoja la solución de lavado en un recipiente desechable y trátela con desinfectante al final de la jornada de trabajo.
 - b. **Procedimiento de lavado automático:**
Si está utilizando un sistema automático de lavado, ajuste el volumen dispensado en 300-350 µl/micropocillo. Ajuste el ciclo de lavado para 5 lavados, sin interrupción entre los mismos. En caso necesario, se puede extraer la placa de micropocillos del lavador, invertirla sobre una toalla de papel y golpearla con firmeza para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos.
8. Agregue 100 µl de conjugado a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
9. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
10. Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
11. Agregue 100 µl de TMB a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
12. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
13. Detenga la reacción añadiendo 50 µl de la solución para detener la reacción a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregó la TMB. Las muestras positivas cambiarán de azul a amarillo. Después de agregar la solución para detener la reacción, dé unos cuantos golpes secos a la placa para asegurarse de que las muestras estén bien mezcladas.
14. Ajuste la longitud de onda del lector de micropocillos a 450 nm y mida la densidad óptica (DO) de cada micropocillo con respecto al blanco de reactivo. Lea la placa en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ABREVIADO

1. Diluya el suero 1:21.
2. Añada la muestra diluida al micropocillo - 100 µl/micropocillo.
3. —————→ *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
4. Lave.
5. Añada el conjugado - 100 µl/micropocillo.
6. —————→ *Incube durante 25 ± 5 minutos.*

7. Lave.
8. Añada la TMB - 100 µl/micropocillo.
9. \longrightarrow *Incube durante 10 - 15 minutos.*
10. Añada la solución para detener la reacción - 50 µl/micropocillo - Mezcle.
11. LEA en el transcurso de 30 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir en cada prueba un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
2. Calcule la media de los micropocillos de los tres calibradores. Si alguno de los tres valores difiere de la media más del 15%, deséchelo y calcule la media de los dos valores restantes.
3. El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

	<u>Intervalo de DO</u>
Control negativo	$\leq 0,250$
Calibrador	$\geq 0,300$
Control positivo	$\geq 0,500$

- a. El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\leq 0,9$.
- b. El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\geq 1,25$.
- c. Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
4. Los controles negativo y positivo sirven para verificar fallos sustanciales de los reactivos, pero no aseguran la precisión en el límite de referencia de la prueba.
5. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.
6. Consulte el documento C24 del CLSI: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Control de calidad estadístico para procedimientos de determinación cuantitativa) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Al Calibrador incluido en este Sistema de prueba se le ha asignado un Factor de Corrección para la generación de Valores Índice y un Valor de Calibrador para la generación de Valores Unitarios. Basándose en pruebas de muestras de estado normal y de enfermedad, el fabricante ha determinado un Valor Unitario máximo y se ha correlacionado con el Calibrador.

1. Cálculos

- a. *Factor de corrección:* El fabricante ha determinado un valor de DO como límite de referencia para las muestras positivas y lo ha correlacionado con el calibrador. El factor de corrección (FC) permite calcular el límite de referencia de las muestras positivas. Asimismo, permite corregir las pequeñas variaciones cotidianas de los resultados de las pruebas. El factor de corrección se determina para cada lote de componentes del kit y está impreso en la etiqueta de componentes que se encuentra en la caja del sistema de pruebas.
- b. *Límite de referencia de la DO:* Para obtener el límite de referencia de la DO, multiplique el FC por la media de la DO del calibrador determinado anteriormente.
($FC \times \text{media de DO del calibrador} = \text{límite de referencia de la DO}$)
- c. *Valores índice/cocientes de DO:* Calcule el valor índice/cociente de DO de cada muestra dividiendo su valor de DO por el límite de referencia de la DO del paso b.

Ejemplo: DO media del calibrador	= 0,793
Factor de corrección (FC)	= 0,25
Límite de referencia de la DO	= $0,793 \times 0,25 = 0,198$
DO de muestra desconocida	= 0,432
Valor índice/cociente de DO de la muestra	= $0,432/0,198 = 2,18$

- d. *Conversión de Densidad Óptica en AAU/ml:* La conversión de la DO en Valor Unitario (AAU/ml) se puede representar mediante la siguiente ecuación:

Muestra de prueba AAU/ml = $(A \times B) / C$ En donde: AAU/ml = Valor Unitario desconocido a ser determinado; A = OD de la muestra de prueba en cuestión; B = Valor Unitario del Positivo del calibrador (AAU/ml) y C = Media de la DO del calibrador.

Ejemplo: DO de la muestra de prueba = 0,946
0,435

AAU de la muestra de prueba/ml = $(0,946 \times 155) /$

DO del calibrador = 0,435

Muestra de prueba = 337 AAU/ml

Valor unitario del calibrador = 155 AAU/ml

2. **Interpretaciones:** Los valores índice/cocientes de DO se interpretan como se indica a continuación:

	Valores unitarios	Valor índice/cociente de DO
Muestras negativas	Muestras negativas	≤0,90
Muestras dudosas	150 a 180 AAU/ml	0,91 a 1,09
Muestras positivas	> 180 AAU/ml	≥1,10

Vuelva a analizar por duplicado las muestras con valores del coeficiente de DO comprendidos en el intervalo dudoso (0,91 – 1,09). Documente cualesquiera dos de los tres resultados que concuerden. Repita la evaluación de las muestras dudosas utilizando un método serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- No realice un diagnóstico basándose exclusivamente en cualquiera de los resultados del Anti-SSB(La).
- Interprete los resultados de la prueba de forma conjunta con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.

RESULTADOS ESPERADOS

El valor esperado para un paciente normal es un resultado negativo. El número de reactivos y el grado de reactividad dependen de parámetros tales como la población que está siendo estudiada, el tratamiento, etc. Cada laboratorio debe establecer sus propios valores esperados basados en las muestras que analiza típicamente. Con respecto a la enfermedad y porcentaje de reactividad, la Tabla 1 en la sección Importancia y aspectos generales de este prospecto muestra la frecuencia relativa de la actividad de autoanticuerpo para varios trastornos reumáticos.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudio comparativo:

Se ha realizado un estudio comparativo para demostrar la equivalencia del Anti-SSB(La), con otros sistemas de pruebas ELISA para autoanticuerpos disponibles comercialmente utilizando 337 muestras de suero; 152 muestras de donantes normales del noreste y sudeste de los Estados Unidos y 185 muestras almacenadas de estado de enfermedad previamente caracterizadas con respecto a actividad de autoanticuerpos. Los resultados de la investigación se resumen en las tablas 1 y 2 siguientes:

Tabla 1: Sensibilidad relativa, muestras de personas enfermas

Reactivos para ELISA de ZEUS	Reactivos para ELISA comercial	Muestras discrepantes	Reactivos tras la resolución de los discrepantes	Sensibilidad
28	34	6	29	28/29 = 96,6%

Tabla 2: Especificidad relativa; muestras de donantes normales

No reactivos para ELISA de ZEUS	Reactivos para ELISA comercial	Muestras discrepantes	No reactivos tras la resolución de los discrepantes	Especificidad
147	147	0	147	147/147 = 100%

2. Reproducibilidad:

Se ha realizado un estudio de reproducibilidad para evaluar la variabilidad dentro del ensayo y entre ensayos del procedimiento de prueba, un positivo fuerte un positivo débil y una muestra negativa. Las muestras se probaron once veces cada uno de los tres días. Se calcularon el valor unitario medio, la desviación estándar y el porcentaje de CV para cada muestra. Los resultados de este estudio se muestran a continuación:

Tabla 3: Reproducibilidad para el Anti-SSB(La)

Muestra	Reproducibilidad intraensayo									Reproducibilidad interensayos		
	Día 1			Día 2			Día 3			Todos los días combinados		
	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV	Media	DE	% CV
Positivo alto	1022	120	12	881	65	7	987	67	7	963	108	11
Positivo bajo	178	29	16	167	20	12	210	25	12	185	32	17
Negativo	2	2	N/A	1	1	N/A	1	1	N/A	1	1	N/A

3. Reactividad cruzada:










Para evaluar la posible reactividad cruzada al utilizar el Anti-SSB(La), se analizaron especímenes negativos para AAN por HEp-2 IFA y positivos para anticuerpos de tipo IgG contra varios antígenos tales como ACV-VEB, ANEB, VHS-1, VHS-2, CMV, rubeola y/o toxoplasmosis. Todas las muestras analizadas fueron negativas en la prueba de ELISA, lo cual indica que el potencial de reactividad cruzada con dichos anticuerpos no es probable, y por consiguiente no debería afectar a los resultados obtenidos.

REFERENCIAS

1. Tan E, Cohen A, Fries J, *et al*: Special Article: The 1982 revised criteria for classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis. Rheum.* 25:1271-1277, 1982.
2. Beufels M, Kouki F, Mignon F, *et al*: Clinical significance of anti-Sm antibodies in systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.* 74:201-215, 1983.
3. Sharp GC, Irwin WS, Tan EM, Holman H: Mixed connective tissue disease. An apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am. J. Med.* 52:148-159, 1972.
4. Winfield JB, Brunner CB, Koffler DB: Serological studies in patients with systemic lupus erythematosus and central nervous system dysfunction. *Arthritis Rheum.* 21:289-294, 1978.
5. Tan EM, Kunkel HG: Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 96:464-471, 1966.
6. Maddison PJ, Mogavero H, Provost TT, Reichlin M: The clinical significance of autoantibodies to soluble cytoplasmic antigen in systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases. *J. Rheumatol.* 6:189-192, 1979.
7. Clark G, Reichlin M, Tomasi TB: Characterization of soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 102:117, 1969.
8. Alexander E, Arnett FC, Provost TT, Stevens MB: The Ro(SSA) and LA(SSB) antibody system and Sjögren's syndrome. *J. Rheum.* 9:239-246, 1982.
9. Alspaugh MA, Talal N, and Tan E: Differentiation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 19:216-222, 1976.
10. Marguerie C, Bunn CC, Beynon HL, *et al*: Polymyositis, pulmonary fibrosis and autoantibodies to aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. *Quart. J. Med.* 77:1019-1038, 1990.
11. Tan EM: Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv. Immunol.* 44:93-151, 1989.
12. Sontheimer RD, Thomas JR, Gilliam JN: Subacute cutaneous lupus erythematosus: A cutaneous marker for a distinct lupus erythematosus subset. *Arch. Derm.* 115:1409-1415, 1979.
13. Provost TT, Arnett FC, Reichlin M: Homozygous C2 deficiency, lupus erythematosus and anti Ro(SSA) antibodies. *Arth. Rheum.* Vol. 26, No. 10, 1279-1282, 1983.
14. LeRoy EC, Black CM, Fleishmajer R, *et al*: Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. *J. Rheumatol.* 15:202-205, 1988.
15. Weiner ES, Hildebrandt S, Senecal JL, *et al*: Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase 1 antibodies in Raynaud's disease. A prospective study. *Arthritis Rheum.* 34:68-77, 1991.
16. Mongey AB, Hess EV: Antinuclear antibodies and disease specificity. *Advances in Int. Med.* 36(1): 151-169, 1989.
17. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
18. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 2nd edition. Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
19. Sturgess A: Review: Recently characterized autoantibodies and their clinical significance. *Aust. N.Z. J. Med.* 22:279-289, 1992.
20. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. *Fed. Register* 56:64175-64182, 1991.
21. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th 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.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden haber sido utilizados en el etiquetado de este producto.

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
	Fabricante		Mantener alejado de la luz solar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	PLATE	Placa
REF	Número de catálogo	CONJ	Conjugado
Σ_n	Suficiente para n pruebas	CTRL +	Control positivo
LOT	Código de lote	CTRL -	Control negativo
	Usar antes de	CAL	Calibrador
	Limitaciones de temperatura de almacenamiento	DIL SPE	Diluyente de la muestra
CONT	Contenido	SOLN TMB	TMB
UDI	Identificador único de dispositivo	SOLN STOP	Solución de detención
	Consulte las advertencias y precauciones	WASH 10X	Solución amortiguadora de lavado (10X)
	Consulte las instrucciones electrónicas de uso	ES	Español
	Guardar en posición vertical	Made in the USA	Fabricado en EE. UU.
RX Only	Aplicable en Estados Unidos: Producto de diagnóstico in vitro de prescripción		Corrosivo
	Comunicación de riesgos	EC REP	Representante autorizado de la Comisión Europea
CE	Conformidad con la Directiva 98/79		



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2

International: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Website: www.zeusscientific.com

EC **REP**

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

Para atención al cliente en EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Para soporte técnico en EE. UU., póngase en contacto con ZEUS Scientific, llame al número gratuito o envíe un correo electrónico a support@zeusscientific.com.

Para consultas de atención al cliente y soporte técnico fuera de EE. UU., póngase en contacto con su filial o distribuidor autorizado de Sebia.

©2025 ZEUS Scientific. Todos los derechos reservados.