



DCM095-8
Ed. 03/2024

Anti dsDNA IgG

per analisi di routine

Determinazione quantitativa degli anticorpi IgG contro il dsDNA nel siero o plasma umano.

IVD



LOT

Vedere etichetta esterna

2°C 8°C



$\Sigma = 96$ test

REF DKO095

DESTINAZIONE D'USO

Il kit Anti dsDNA IgG è un test immunoenzimatico (ELISA) indiretto in fase solida sviluppato per la determinazione quantitativa degli anticorpi di classe IgG diretti contro il dsDNA, presenti nel siero o plasma umano.

Il kit Anti dsDNA IgG è destinato al solo uso di laboratorio.

1. SIGNIFICATO CLINICO

Il test Anti dsDNA IgG è usato per la diagnosi iniziale del Systemic Lupus Erythematosus (SLE) e per le differenti diagnosi delle malattie dello SLE.

Oltre alla determinazione di alti titoli di Anticorpi Antinucleo (ANA), la determinazione degli autoanticorpi contro dsDNA è uno dei criteri ACR (American College of Rheumatology) per la diagnosi del Systemic Lupus Erythematosus (SLE). La determinazione della concentrazione degli anticorpi può essere utilizzata per monitorare il successo terapeutico e predire eventuali attacchi della malattia (SLE).

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il test Anti dsDNA IgG si basa sul legame degli anticorpi IgG del siero o plasma con il dsDNA adsorbito sulla micropiastro. Nella prima fase gli anticorpi nei calibratori, nei controlli o nei campioni prediluiti dei pazienti si legano sulla superficie interna dei pozzetti. Dopo un periodo di incubazione la micropiastro viene lavata con tampone di lavaggio per la rimozione delle componenti del siero che non hanno reagito. Nella seconda fase una soluzione di immunoglobuline anti-human IgG coniugate con perossidasi di rafano (HRP) riconosce gli anticorpi di classe IgG legati agli antigeni dsDNA immobilizzati. Dopo un periodo di incubazione, l'eccesso di coniugato enzimatico che non si è legato specificamente viene rimosso mediante tampone di lavaggio. Infine si aggiunge ai pozzetti una soluzione substrato cromogenica contenente TMB. Dopo 15 minuti di incubazione si blocca lo sviluppo del colore mediante aggiunta della soluzione di stop. Il colore della soluzione diventa giallo. La quantità di colore sviluppato è direttamente proporzionale alla concentrazione di anticorpi IgG anti dsDNA presenti nel campione originale.

La concentrazione di anticorpi IgG anti dsDNA presenti nel campione è calcolata sulla base di una curva di calibrazione.

3. REATTIVI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

3.1. Reattivi e materiali forniti nel kit

1. Calibrators (5 flaconi, 1,2 mL ciascuno, pronti all'uso)

Tampone fosfato 0,1 M, $\text{NaN}_3 < 0,1\%$, siero umano

CAL0

REF DCE002/9506-0

CAL1

REF DCE002/9507-0

CAL2

REF DCE002/9508-0

CAL3

REF DCE002/9509-0

CAL4

REF DCE002/9510-0

2. Controls (2 flaconi, 1,2 mL ciascuno, pronti all'uso)

Tampone fosfato 0,1 M $\text{NaN}_3 < 0,1\%$, siero umano

Controllo Negativo

REF DCE045/9501-0

Controllo Positivo

REF DCE045/9502-0

3. Sample diluent (1 flacone, 100 mL)

Tampone fosfato 0,1 M $\text{NaN}_3 < 0,1\%$

REF DCE053/9553-0

4. Conjugate (1 flacone, 15 mL)

Anti h-IgG coniugato con perossidasi di rafano (HRP),

BSA 0,1%, ProClin $< 0,0015\%$ REF DCE002/9502-0

5. Coated Microplate (1 micropiastro breakable)

dsDNA adsorbito su micropiastro

REF DCE002/9503-0

6. TMB Substrate (1 flacone, 15 mL)

H_2O_2 -TMB (0,26 g/L) (evitare il contatto con la pelle),
ProClin $< 0,0015\%$ REF DCE004-0

7. Stop Solution (1 flacone, 15 mL)

Acido solforico 0,15M (evitare il contatto con la pelle)
REF DCE005-0

8. 10X Conc. Wash Solution (1 flacone, 50 mL)

Tampone fosfato 0,2M pH 7,4, ProClin $> 0,0015\%$
REF DCE054-0

3.2. Reattivi necessari non forniti nel kit

Acqua distillata.

3.3. Materiale e strumentazione ausiliare

Dispensatori automatici.

Lettore per micropiastre (450 nm, 620-630 nm).

Note

Conservare tutti i reattivi a 2-8°C, al riparo dalla luce. Aprire la busta del Reattivo 5 (Coated Microplate) solo dopo averla riportata a temperatura ambiente e chiuderla subito dopo il prelievo delle strip da utilizzare; una volta aperta è stabile fino alla data di scadenza del kit.

4. AVVERTENZE

- Questo test kit è per uso in vitro, da eseguire da parte di personale esperto. Non per uso interno o esterno su esseri Umani o Animali.
- Usare i previsti dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP) per la manipolazione di prodotti derivati da sangue.
- Tutti i reattivi di origine umana usati nella preparazione dei reagenti sono stati testati e sono risultati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1&2, per HbsAg e per anticorpi anti-HCV. Tuttavia nessun test offre la certezza completa dell'assenza di HIV, HBV, HCV o di altri agenti infettivi. Pertanto, i Calibratori ed i Controlli devono essere maneggiati come materiali potenzialmente infettivi.
- Materiali di origine animale usati per la preparazione di questo kit sono stati ottenuti da animali sani e le proteine bovine sono state ottenute da paesi non affetti da BSE, ma comunque questi materiali dovrebbero essere usati come potenzialmente contagiosi.
- Alcuni reagenti (wash solution) contengono piccole quantità di ProClin™ 300 (>0,0015, <0,06%) come conservante. Evitare il contatto con pelle o mucose.
- Classificazione secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1



Attenzione

Contiene: ProClin 300

Indicazioni di pericolo:

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

Consigli di prudenza:

P261 - Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi / proteggere gli occhi / proteggere il viso / proteggere l'udito.

P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari di pronto soccorso su questa etichetta).

P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico.

P362+P364 - Togliere tutti gli indumenti

contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

- Alcuni reagenti (calibrators and controls) contengono piccole quantità di azoturo di sodio (NaN_3) <0.1% che può essere tossico se ingerito o assorbito attraverso la pelle o gli occhi; inoltre, può reagire con le tubature di piombo o rame per formare azoturi metallici potenzialmente esplosivi. Se si utilizza un lavandino per rimuovere i reagenti, lavare con abbondante acqua per evitare l'accumulo di azoturi.
- Il TMB Substrato contiene un irritante, che può essere dannoso se inalato, ingerito o assorbito attraverso la cute. Per prevenire lesioni, evitare l'inalazione, l'ingestione o il contatto con la cute e con gli occhi.
- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/ H_2O_2 a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.

5. PRECAUZIONI

- Si prega di attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi indicata in questo protocollo. I risultati presentati qui sono stati ottenuti usando specifici reagenti elencati in queste Istruzioni per l'Uso.
- Tutti i reattivi devono essere conservati a temperatura controllata di 2-8°C nei loro contenitori originali. Eventuali eccezioni sono chiaramente indicate. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza se conservati e trattati seguendo le istruzioni fornite.
- Prima dell'uso lasciare tutti i componenti dei kit e i campioni a temperatura ambiente (22-28°C) e mescolare accuratamente.
- Non scambiare componenti dei kit di lotti diversi. Devono essere osservate le date di scadenza riportate sulle etichette della scatola e di tutte le fiale. Non utilizzare componenti oltre la data di scadenza.
- **ATTENZIONE: il reagente Coniugato è stato studiato per garantire la massima sensibilità di dosaggio, e pertanto, se non opportunamente usato, può essere contaminato da agenti esterni;** si raccomanda pertanto di utilizzare consumabili (puntali, flaconi, vaschette ecc.) usa e getta. Per dosaggi frazionati, prelevare l'esatta quantità di coniugato necessaria ed evitare di re-introdurre l'eventuale scarto nel flacone originale. Inoltre, **per dosaggi effettuati con l'ausilio di strumentazione automatica e semi-automatica,** si consiglia, prima di utilizzare il coniugato, di effettuare uno step di pulizia della fluidica, assicurandosi che le procedure di lavaggio, deproteinizzazione e decontaminazione siano efficaci nell'evitare la contaminazione del coniugato; **questa procedura è fortemente raccomandata quando il kit è processato con analizzatori non dotati di puntali monouso.**

A tale scopo Dia.Metra rende disponibile separatamente un reattivo decontaminante per il lavaggio degli aghi.

- Qualora si utilizzi strumentazione automatica, è responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il kit sia stato opportunamente validato.
- Un lavaggio incompleto o non accurato dei pozzetti può causare una scarsa precisione e/o un'elevato background. Per migliorare le prestazioni del kit su strumentazione automatica, si consiglia di aumentare il numero di lavaggi.
- Per la riproducibilità dei risultati, è importante che il tempo di reazione di ogni pozzetto sia lo stesso. Per evitare il time shifting durante la dispensazione degli reagenti, il tempo di dispensazione dei pozzetti non dovrebbe estendersi oltre i 10 minuti. Se si protrae oltre, si raccomanda di seguire lo stesso ordine di dispensazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva di calibrazione in ogni piastra.
- L'aggiunta del TMB Substrato dà inizio ad una reazione cinetica, la quale termina con l'aggiunta della Stop Solution. L'aggiunta del TMB Substrato e della Stop Solution deve avvenire nella stessa sequenza per evitare tempi di reazione differenti.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori clinici testando controlli e/o pool di sieri.
- Osservare la massima precisione nella ricostituzione e dispensazione dei reagenti.
- Non usare campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici o emolizzati.
- I lettori di micropiastre leggono l'assorbanza verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.

6. PROCEDIMENTO

6.1. Preparazione dei Calibratori (C₀...C₄)

I Calibratori sono pronti all'uso, sono tarati in accordo allo standard internazionale WHO Wo/80, ed hanno approssimativamente le seguenti concentrazioni:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
IU/mL	0	12.5	25	50	200

NB: le concentrazioni esatte dei Calibratori sono lotto-dipendenti, e sono riportate sul Certificato di Analisi e sulle etichette.

Una volta aperti sono stabili per 6 mesi a 2÷8°C.

6.2. Preparazione del campione

Le matrici di elezione per la determinazione degli anticorpi anti dsDNA sono siero o plasma umano. **Tutti i campioni di siero o plasma devono essere prediluiti 1:100 con sample diluent; per esempio 10 µL di campione possono essere diluiti con 990 µL di sample diluent.**

I pazienti non devono necessariamente essere a digiuno e non è richiesta alcuna preparazione particolare. Raccogliere il sangue mediante prelievo venoso in un vacutainer e separare il siero (dopo la formazione del coagulo) o il plasma dalle cellule per centrifugazione.

I campioni possono essere conservati refrigerati a 2-8 °C per almeno 5 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi fino a 6 mesi i campioni dovrebbero essere congelati a -20°C. Per evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti, i campioni dovrebbero essere aliquotati. Emolisi e presenza di bilirubina non hanno effetti evidenti sulla determinazione.

I Controlli sono pronti all'uso.

6.3. Preparazione della Wash Solution

Prima dell'uso, diluire il contenuto di ogni fiala di soluzione di lavaggio tamponata concentrata (10x) con acqua distillata fino al volume di 500 mL. Per preparare volumi minori rispettare il rapporto di diluizione di 1:10. La soluzione di lavaggio diluita è stabile a 2-8°C per almeno 30 giorni.

Nella wash solution concentrata è possibile osservare la presenza di cristalli; in tal caso agitare a temperatura ambiente fino a completa dissoluzione dei cristalli; per una maggiore precisione diluire tutto il flacone della soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura di trasferire anche i cristalli, poi agitare fino a completa dissoluzione dei cristalli.

6.4. Procedimento

- **Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (22-28°C) per almeno 30 minuti.** Al termine del dosaggio riporre immediatamente tutti i reagenti a 2-8°C: evitare lunghi periodi a temperatura ambiente.
- Le strisce di pozzetti non utilizzate devono essere rimesse immediatamente nella busta richiudibile contenente il materiale essicante e conservate a 2-8°C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche non rimettere i reagenti inutilizzati nei flaconi originali.
- Al fine di aumentare l'accuratezza dei risultati del test è necessario operare in doppio, allestendo due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C₀-C₄), due per ogni Controllo, due per ogni Campione e uno per il Bianco.

7. RISULTATI

7.1. Curva di calibrazione

Per il test Anti dsDNA IgG il metodo di scelta per il trattamento dei risultati è una elaborazione a 4 parametri con assi lin-log per densità ottica e concentrazione rispettivamente. Inoltre si possono utilizzare un'approssimazione spline e coordinate log-log. Tuttavia si raccomanda di utilizzare una curva Lin-Log.

Innanzitutto occorre calcolare la media delle densità ottiche relative ai calibratori. Utilizzare un foglio di carta lin-log e tracciare le densità ottiche medie di ogni calibratore verso la rispettiva concentrazione. Disegnare la curva che approssima nel modo migliore tutti i punti di calibrazione. I punti dei calibratori possono anche essere collegati con segmenti di linea retta. La concentrazione dei campioni incogniti può essere determinata per interpolazione dalla curva di calibrazione.

8. VALORI DI RIFERIMENTO

Intervalli di normalità per il test Anti dsDNA IgG:

	Anti dsDNA IgG (IU/mL)
Normale	< 25
Elevato	> 25

È importante tenere presente che la determinazione di un range di valori attesi in un dato metodo per una popolazione "normale" è dipendente da molteplici fattori, quali la specificità e sensibilità del metodo in uso, e la popolazione in esame. Perciò ogni laboratorio dovrebbe considerare i range indicati dal Fabbricante come un'indicazione generale e produrre range di valori attesi propri basati sulla popolazione indigena dove il laboratorio risiede.

I risultati positivi dovrebbero essere verificati relativamente allo stato clinico del paziente. Inoltre, ogni decisione relativa alla terapia dovrebbe essere presa individualmente. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i suoi propri intervalli normale e patologico di anticorpi Anti dsDNA sierici.

9. PARAMETRI CARATTERISTICI

9.1. Specificità

Test di correlazione contro un analogo kit commerciale di riferimento, effettuati su 100 sieri (50 positivi e 50 negativi) hanno mostrato una specificità > 99%.

9.2. Sensibilità

Test di correlazione contro un analogo kit commerciale di riferimento, effettuati su 100 sieri (50 positivi e 50 negativi) hanno mostrato una sensibilità > 99%.

9.3. Limite di Rilevabilità

La minor concentrazione di anticorpi IgG diretti contro il dsDNA che può essere distinta dal Calibratore 0 è di 0,135 IU/mL.

Reagente	Calibratore	Campione /Controlli	Bianco
Calibratore C ₀ -C ₄	100 µL		
Controlli		100 µL	
Campione diluito		100 µL	
Incubare 45 minuti a 37°C. Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto: lavare i pozzetti per 3 volte con 300 µL di wash solution diluita. Nota importante: ad ogni step di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e successivamente rimuovere l'eccesso di soluzione di lavaggio sbattendo delicatamente la micropiastra capovolta su fogli di carta assorbente. Lavaggi automatici: se si utilizza strumentazione automatica effettuare almeno 5 lavaggi.			
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubare 45 minuti a 37°C. Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto; lavare i pozzetti per 3 volte con 300 µL di wash solution diluita (se si usa strumentazione automatica effettuare almeno 5 lavaggi). Lavaggi: seguire le stesse indicazioni del punto precedente.			
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubare 15 minuti al buio a temperatura ambiente (22-28°C).			
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
Agitare delicatamente la piastra. Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm oppure contro il Bianco entro 5 minuti.			

10. DISPOSIZIONI PER LO SMALTIMENTO

I reagenti devono essere smaltiti in accordo con le leggi locali.

BIBLIOGRAFIA

1. Conde, Jhon J. The autoimmune disease. The Journal of the American Medical Association 1987, Vo 258 n 20 2920 - 2929
2. Reichlin, M., Van Venrooij, W. J.: Autoantibodies to UNRP particles: relationship to clinical diagnosis and nephritis. Clin.exp.Immunol. 1991; 83:286-90.
3. Tan EM, et al.: The 1982 Revised Criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis and Rheumatism 25: 1271-1277, 1982.

4. McCarty GA. Autoantibodies and their relation to rheumatic diseases. Medical Clinics of North America 70: 237-261, 1986.
5. Hardin JA. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. Arth Rheum 29: 457-460, 1986.
6. The first international Calibrator for antibodies to double stranded DNA. Annals of the Rheumatic Disease 198; Vo 47: 740 - 746
7. Homburger HA, et al: detection of Antinuclear antibodies, comparative evaluation of enzyme immunoassay and indirect immunofluorescence methods. Arch Pathol Lab Med 122:993-999 (1998)
8. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA. Comparison of IFT on Crithidia Lucilaie, FARR assay and PEG assay. The journal of Immunology 1982 Vo 128 n.1. 73 -78



DCM095-8
Ed. 03/2024

Anti dsDNA IgG

for routine analysis

Quantitative determination of IgG class antibodies against dsDNA in human serum or plasma

IVD

LOT

See external label

2°C 8°C

Σ = 96 tests

REF DKO095

INTENDED USE

Anti dsDNA IgG kit is an indirect solid phase enzyme immunometric assay (ELISA) designed for the quantitative measurement of IgG class antibodies directed against dsDNA in human serum or plasma. Anti dsDNA IgG is intended for laboratory use only.

1. CLINICAL SIGNIFICANCE

Anti dsDNA IgG test is used for initial diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and for diagnosis of SLE different diseases. Besides the determination of high titers of antinuclear antibody (ANA), the determination of autoantibodies against dsDNA is one of the ACR criteria (American College of Rheumatology) for the diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus (SLE). The determination of the concentration of antibodies can be used to monitor treatment success and predict possible attacks of the disease (SLE)

2. PRINCIPLE

Anti dsDNA IgG test is based on the binding of serum or plasma IgG antibodies on dsDNA coated on the microplates. In the first step the antibodies in calibrators, controls or prediluted patient samples bind into the inner surface of the wells. After an incubation the microplate is washed with a wash buffer for removing non-reactive serum components. In the second step an anti human IgG horseradish peroxidase conjugated solution recognizes the IgG class antibodies bound to the immobilized dsDNA antigens. After an incubation any excess of enzyme conjugate, which is not specifically bound, is washed away with the wash buffer.

Then a chromogenic substrate solution containing TMB is dispensed into the wells. After 15 minutes of incubation the color development is stopped by adding the stop solution. The solution color changes into yellow. The amount of color is directly proportional to the concentration of the Anti dsDNA IgG antibodies present in the original sample. The concentration of the anti dsDNA IgG antibodies in the sample are calculated through a calibration curve.

3. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

3.1. Reagents and materials supplied in the kit

- Calibrators (5 vials, 1.2 mL each, ready to use)
Phosphate buffer 0.1 M, $\text{NaN}_3 < 0.1\%$, human serum
CAL0 REF DCE002/9506-0
CAL1 REF DCE002/9507-0
CAL2 REF DCE002/9508-0
CAL3 REF DCE002/9509-0
CAL4 REF DCE002/9510-0
- Controls (2 vials, 1.2 mL each, ready to use)
Phosphate buffer 0.1 M, $\text{NaN}_3 < 0.1\%$, human serum
Negative Control REF DCE045/9501-0
Positive Control REF DCE045/9502-0
- Sample Diluent (1 vial, 100 mL)
Phosphate buffer 0.1 M, $\text{NaN}_3 < 0.1\%$
REF DCE053/9553-0
- Conjugate (1 vial, 15 mL)
Anti h-IgG conjugated with peroxidase, BSA 0.1%,
ProClin $< 0.0015\%$ REF DCE002/9502-0
- Coated Microplate (1 breakable microplate)
Microplate coated with dsDNA REF DCE002/9503-0
- TMB Substrate (1 vial, 15 mL)
 H_2O_2 -TMB (0,26 g/L) (avoid any skin contact),
ProClin $< 0.0015\%$ REF DCE004-0
- Stop Solution (1 vial, 15 mL)
Sulphuric acid 0.15M (avoid any skin contact)
REF DCE005-0
- 10X Conc. Wash Solution (1 vial, 50 mL)
Phosphate buffer 0.2M pH 7.4, ProClin $> 0.0015\%$
REF DCE054-0

3.2. Reagents necessary not supplied

Distilled water.

3.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser.

Microplates reader (450 nm, 620-630 nm)

Notes

Store all reagents between 2÷8°C in the dark.

Open the bag of reagent 5 (Coated Microplate) only when it is at room temperature and close it immediately after use; once opened, it is stable until expiry date of the kit.

4. WARNINGS

- This kit is intended for in vitro use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
- All human source material used in the preparation of the reagents has been tested and found negative for antibody to HIV 1&2, HbsAg, and HCV. No test method however can offer complete assurance that HIV, HBV, HCV or other infectious agents are absent. Therefore, Calibrators and Controls should be handled in the same manner as potentially infectious material.
- Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents (wash solution) contain small amounts of ProClin™ 300 (>0.0015%, <0.06%) as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- Classification according to Regulation (EC) No. 1272/2008 [CLP]

Skin sensitivity, Category 1



Warning

Contains: ProClin 300

Hazard statements:

H317 - May cause an allergic skin reaction.

Precautionary statements:

P261 - Avoid breathing dust / fume / gas / mist / vapours / spray.

P280 - Wear protective gloves/ protective clothing / eye protection / face protection / hearing protection.

P321 - Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).

P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P362+P364 - Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

- Sodium Azide may be toxic if ingested or absorbed through the skin or eyes; moreover it may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. If you use a sink to remove the reagents, allow scroll through large amounts of water to prevent azide build-up.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.

- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H₂O₂ to directed sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.

5. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2-8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated. The reagents are stable until the expiry date when stored and handled as indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22-28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- **WARNING: the conjugate reagent is designed to ensure maximum dose sensitivity and may be contaminated by external agents if not used properly;** therefore, it is recommended to use disposable consumables (tips, bottles, trays, etc.). For divided doses, take the exact amount of conjugate needed and do not re-introduce any waste product into the original bottle. In addition, **for doses dispensed with the aid of automatic and semi-automatic devices,** before using the conjugate, it is advisable to clean the fluid handling system, ensuring that the procedures of washing, deproteinization and decontamination are effective in avoiding contamination of the conjugate; **this procedure is highly recommended when the kit is processed using analyzers which are not equipped with disposable tips.** For this purpose, Dia.Metra supplies a separate decontamination reagent for cleaning needles.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately tested.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB

Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.

- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.

6. PROCEDURE

6.1. Preparation of the Calibrators (C₀...C₄)

Calibration curve is ready to use and is calibrated against International Standard WHO Wo/80. The Calibrators have approximately the following concentration:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
IU/mL	0	12.5	25	50	200

NB: Calibrators concentration is lot-dependent; exact concentrations are indicated on Certificate of Analysis and labels.

Once opened, the Calibrators are stable 6 months at 2-8°C.

6.2. Preparation of the Sample

For determination of anti dsDNA antibodies, human serum or plasma are the preferred sample matrixes.

All serum and plasma samples have to be prediluted with sample diluent 1:100; for example 10 µL of sample may be diluted with 990 µL of sample diluent.

The patients need not to be fasting, and no special preparations are necessary. Collect blood by venipuncture into vacutainers and separate serum (after clot formation) or plasma from the cells by centrifugation.

Samples may be stored refrigerated at 2-8°C for at least 5 days. For longer storage of up to six months samples should be stored frozen at -20°C. To avoid repeated thawing and freezing the samples should be aliquoted.

Neither Bilirubin nor Hemolysis have significant effect on the procedure.

The Controls are ready to use.

6.3. Preparation of the Wash Solution

Dilute the contents of each vial of the buffered wash solution concentrate (10x) with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2-8°C.

In concentrated wash solution is possible to observe the presence of crystals; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals; for greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care to

transfer completely the crystals, then mix until crystals are completely dissolved.

6.4. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22-28°C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, store immediately the reagents at 2-8°C: avoid long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2-8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C₀-C₄), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/ Controls	Blank
Calibrator C ₀ -C ₄	100 µL		
Controls		100 µL	
Diluted Sample		100 µL	
Incubate 45 minutes at 37°C. Remove the content from each well; wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution. Important note: during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel. Automatic washer: if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.			
Conjugate	100 µL	100 µL	
Incubate 45 minutes at 37°C. Remove the content from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution (if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times). Washing: follow the same indications of the previous point.			
TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate 15 minutes in the dark at room temperature (22-28°C).			
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
Shake the microplate gently. Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.			

7. RESULTS

7.1. Calibration curve

For the test Anti dsDNA IgG a 4-Parameter-Fit with lin-log coordinates for optical density and concentration is the data reduction method of choice. Smoothed-Spline Approximation and log-log coordinates are also suitable. However we recommend using a Lin-Log curve.

First calculate the averaged optical densities for each calibrator well. Use lin-log graph paper and plot the averaged optical density of each calibrator versus the concentration. Draw the best fitting curve approximating the path of all calibrator points. The calibrator points may also be connected with straight line segments. The concentration of unknowns may then be estimated from the calibration curve by interpolation.

8. REFERENCE VALUES

Following ranges have been established with the Anti dsDNA IgG tests:

	Anti dsDNA IgG (IU/mL)
Normal	< 25
Elevated	> 25

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore each laboratory should consider the range given by the Manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

Positive results should be verified concerning the entire clinical status of the patient. Also every decision for therapy should be taken individually.

It is recommended that each laboratory establishes its own normal and pathological ranges of serum Anti dsDNA.

9. PERFORMANCE AND CHARACTERISTICS

9.1. Specificity

Comparison test against a commercial reference kit, performed on 100 sera (50 of them positive sera and 50 negative sera) showed a specificity > 99%.

9.2. Sensitivity

Comparison test against a commercial reference kit, performed on 100 sera (50 of them positive sera and 50 negative sera) showed a sensibility > 99%..

9.3. Detection limit

The lowest concentration of Anti dsDNA IgG that can be distinguished from zero Calibrator is 0.135 IU/mL.

10. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed off in accordance with local regulations.

BIBLIOGRAPHY

1. Condemi, Jhon J. The autoimmune disease. The Journal of the American Medical Association 1987, Vo 258 n 20 2920 - 2929
2. Reichlin, M., Van Venrooij, W. J.: Autoantibodies to UNRP particles: relationship to clinical diagnosis and nephritis. Clin. exp. Immunol. 1991; 83:286-90.
3. Tan EM, et al.: The 1982 Revised Criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis and Rheumatism 25: 1271-1277, 1982.
4. McCarty GA. Autoantibodies and their relation to rheumatic diseases. Medical Clinics of North America 70: 237-261, 1986.
5. Hardin JA. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. Arth Rheum 29: 457-460, 1986.
6. The first international Calibrator for antibodies to double stranded DNA. Annals of the Rheumatic Disease 198; Vo 47: 740 - 746
7. Homburger HA, et al: detection of Antinuclear antibodies, comparative evaluation of enzyme immunoassay and indirect immunofluorescence methods. Arch Pathol Lab Med 122:993-999 (1998)
8. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA. Comparison of IFT on Crithidia Lucilaie, FARR assay and PEG assay. The journal of Immunology 1982 Vo 128 n.1. 73 -78

Ed. 03/2024

DCM095-8



DCM095-8
Ed. 03/2024

Anti dsDNA IgG

para análisis de rutina

Determinación cuantitativa de los anticuerpos IgG contra el ADN bicatenario (dsDNA) en suero o plasma humano.

IVD

LOT

Ver etiqueta externa

2°C 8°C



Σ = 96 ensayos

REF DKO095

USO PREVISTO

El kit Anti dsDNA IgG es un ensayo inmunoenzimático indirecto en fase sólida (ELISA) desarrollado para la determinación cuantitativa de los anticuerpos de clase IgG directos contra el dsDNA, presentes en el suero o plasma humano.

El kit Anti dsDNA IgG está destinado al uso en laboratorio exclusivamente.

1. SIGNIFICADO CLÍNICO

El ensayo Anti dsDNA IgG se usa para el diagnóstico inicial del lupus eritematoso sistémico (SLE) y para los distintos diagnósticos de las enfermedades del SLE.

Además de la determinación de altos títulos de anticuerpos antinúcleo (ANA), la determinación de los autoanticuerpos contra dsDNA es uno de los criterios ACR (*American College of Rheumatology*) para el diagnóstico del lupus eritematoso sistémico (SLE). La determinación de la concentración de los anticuerpos puede usarse para controlar el éxito terapéutico y predecir eventuales ataques de la enfermedad (SLE).

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo Anti dsDNA IgG se basa en la unión de los anticuerpos IgG del suero o plasma con el dsDNA absorbido en la microplaca. Los anticuerpos en los calibradores, en los controles o en las muestras prediluidas de los pacientes se unen a la superficie interna de los pocillos. Tras de una incubación, la microplaca se lava con un tampón de lavado para retirar los componentes del suero que no han reaccionado. Una solución de inmunoglobulinas anti-IgG humana conjugadas con peroxidasa de rábano reconoce los anticuerpos de clase IgG unidos a los antígenos dsDNA inmovilizados. Tras de una incubación, el exceso de conjugado enzimático que no se ha unido específicamente se retira mediante el tampón de lavado. Se añade a los pocillos una solución de sustrato cromogénico que contiene TMB. Tras 15 minutos de incubación se bloquea el desarrollo del color mediante la adición de la solución de parada. El color de la solución se vuelve amarillo. La cantidad del color desarrollado es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos IgG anti dsDNA presentes en la muestra original.

3. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y materiales suministrados en el kit

1. Calibradores (5 frascos, 1,2 mL cada uno, listo para usar)

Tampón fosfato 0,1 M, $\text{NaN}_3 < 0,1\%$, suero humano, CAL0

REF DCE002/9506-0

CAL1

REF DCE002/9507-0

CAL2

REF DCE002/9508-0

CAL3

REF DCE002/9509-0

CAL4

REF DCE002/9510-0

2. Controles (2 frascos, 1,2 mL cada uno, listo para usar)

Tampón fosfato 0,1 M $\text{NaN}_3 < 0,1\%$, suero humano, Control negativo

REF DCE045/9501-0

Control positivo

REF DCE045/9502-0

3. Diluyente de muestra (1 frasco, 100 mL)

Tampón fosfato 0,1 M, $\text{NaN}_3 < 0,1\%$

REF DCE053/9553-0

4. Conjugado (1 frasco, 15 mL)

Anti h-IgG conjugado con peroxidasa da rabano (HRP), BSA 0,1%, ProClin <0,0015%

REF DCE002/9502-0

5. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible) dsDNA absorbido en la microplaca

REF DCE002/9503-0

6. Sustrato TMB (1 frasco, 15 mL)

H_2O_2 -TMB (0,26 g/L) (evitar el contacto con la piel), ProClin <0,0015%

REF DCE004-0

7. Solución de parada (1 frasco, 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15M (evitar el contacto con la piel)

REF DCE005-0

8. Solución de lavado conc. 10X (1 frasco, 50 mL)

Tampón fosfato 0,2M pH 7.4, ProClin >0,0015%

REF DCE054-0

3.2. Reactivos necesarios no suministrados en el kit

Agua destilada.

3.3. Material e instrumentación auxiliares

Dispensadores automáticos.

Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm).

Nota

Conservar todos los reactivos a 2÷8°C, protegidos de la luz.

Abrir la bolsa del reactivo 5 (microplaca recubierta) solo cuando se encuentre a temperatura ambiente y cerrarla inmediatamente después de extraer las tiras que se vayan a utilizar; una vez abierta, permanece estable hasta la fecha de caducidad del kit.

4. ADVERTENCIAS

- Este kit de ensayo está previsto para usarse in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Usar los equipos de protección individual previstos al trabajar con los reactivos suministrados.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados.
- Todos los reactivos de origen humano usados en la preparación de los Calibradores y de los controles se han comprobado y han resultado negativos para la presencia de anticuerpos anti-VIH, para HbsAg y para anticuerpos anti-VHC. Sin embargo, ningún ensayo ofrece seguridad absoluta de la ausencia de VIH, VHB, VHC o de otros agentes infecciosos. Por lo tanto, los Calibradores y los controles positivo y negativo deben manipularse como material potencialmente infeccioso.
- Materiales de origen animal utilizadas para la elaboración de este kit se obtuvieron a partir de animales sanos y de las proteínas de bovino se obtuvieron de los países no afectados por la EEB, pero estos materiales se debe utilizar como potencialmente infecciosos.
- Algunos reactivos (solución de lavado) contienen pequeñas cantidades de ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) como conservante. Evite el contacto con la piel o las mucosas.
- Clasificación según Reglamento (UE) n° 1272/2008 [CLP]
Sensibilización cutánea, categoría 1



Atención

Contiene: ProClin 300

Indicaciones de peligro:

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Consejos de prudencia:

P261 - Evitar respirar el polvo / el humo / el gas / la niebla / los vapores / el aerosol.

P280 - Llevar guantes / ropa de protección / equipo de protección para los ojos / la cara / los oídos.

P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver instrucciones de primeros auxilios en esta etiqueta).

P333+P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P362+P364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

- La Azida de Sodio, usada como conservante, puede ser tóxica si se ingiere o se absorbe a través de la piel o de los ojos; además, puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre formando azidas metálicas potencialmente explosivas. Dejar que corra gran cantidad de agua, si se usa un lavabo para eliminar los reactivos, para prevenir la formación de azidas.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
- La solución de parada está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
- Evite la exposición de los reactivos TMB/H₂O₂ a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.

5. PRECAUCIONES

- Respetar rigurosamente la secuencia de los pasos indicados en este protocolo.
- Todos los reactivos deben conservarse a una temperatura controlada de 2-8 °C en sus recipientes originales. Todas las excepciones están claramente marcados.
- Antes del uso, esperar hasta que todos los componentes del kit y las muestras se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) y mezclar cuidadosamente.
- No mezclar componentes de kits de lotes distintos. Se debe observar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja y de todas las ampollas. No usar componentes después de la fecha de caducidad.
- **ATENCIÓN: se ha estudiado el reactivo conjugado para garantizar la máxima sensibilidad en la determinación y, por lo tanto, si no se usa adecuadamente, podría contaminarse por agentes externos;** se recomienda utilizar consumibles (puntas, frascos, bandejas, etc.) desechables. Para determinaciones fraccionadas, tomar la cantidad necesaria exacta de conjugado y evitar volver a introducir los posibles restos en el frasco original. Además, **para determinaciones realizadas con la ayuda de instrumentación automática y semiautomática**, se recomienda, antes de usar el conjugado, realizar una fase de limpieza de la fluídica, asegurándose de que los procedimientos de lavado, desprotección y descontaminación resulten eficaces para evitar la contaminación del conjugado; **este procedimiento se recomienda especialmente cuando el kit se procesa con**

analizadores que no están dotados de puntas monouso. Para tal fin, Dia.Metra pone a su disposición por separado un reactivo descontaminante para el lavado de las agujas.

- Si utiliza un equipo automático, es responsabilidad del usuario asegurar que el equipo ha sido debidamente validada.
- Un lavado incompleto o impreciso y la aspiración insuficiente del líquido de los pocillos ELISA pueden causar una precisión pobre y/o un elevado fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Para la reproducibilidad de los resultados, es importante que el tiempo de reacción sea igual para cada pocillo. El tiempo de dispensación de los pocillos no debe superar los 10 minutos; si se prolongara más allá de los 10 minutos, respétese el orden de dispensación. si utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva de calibración en cada plato.
- Al añadir el sustrato TMB inicia una reacción cinética que termina al agregar la solución de parada. Tanto el sustrato como la solución de parada deben agregarse en la misma secuencia para evitar diferentes tiempos de reacción.
- Observar las directrices para la ejecución del control de calidad en los laboratorios clínicos al comprobar controles y/o pool de sueros.
- Observar la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No use muestras con contaminación microbiana, altamente lipémicas o hemolizadas.
- Los lectores de microplacas leen las DO verticalmente, por tanto no debe tocarse el fondo de los pocillos.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Preparación de los Calibradores (C₀...C₄)

Los Calibradores son listos para usar, son calibrados frente al estándar internacional WHO Wo/80 y tienen aproximadamente las siguientes concentraciones:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
IU/mL	0	12.5	25	50	200

Los niveles exactos se indican en las etiquetas y en el Certificado de análisis para cada lote específico.

Una vez abiertos, los Calibradores permanecen estables durante 6 meses a 2-8°C.

6.2. Preparación de la muestra

Las matrices de elección para la determinación de los anticuerpos anti dsDNA son suero o plasma humano. **Todas las muestras de suero o plasma deben prediluirse 1:100 con diluyente de muestras.** por ejemplo, 10 µL de muestra pueden diluirse con 990 µL de diluyente de muestras.

Los pacientes no deben necesariamente estar en ayunas y no se requiere ninguna preparación especial. Recoger la sangre mediante extracción venosa en un Vacutainer y separar el suero (tras la

formación del coágulo) o el plasma de las células mediante centrifugado.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas a 2-8 °C durante al menos 5 días. Para períodos de conservación más largos, hasta 6 meses, las muestras deberán congelarse a -20°C. Para evitar congelaciones y descongelaciones repetidas, las muestras deberían dividirse en alícuotas. La hemólisis y la presencia de bilirrubina no tienen efectos evidentes en la determinación.

Los Controles son listo para usar.

6.3. Preparación de la solución de lavado

Antes del uso, diluir el contenido de cada ampolla de solución de lavado tamponada concentrada (10x) con agua destilada hasta un volumen de 500 mL. Para preparar volúmenes menores, respetar la relación de dilución de 1:10. La solución de lavado diluida se mantiene estable a 2-8 °C durante al menos 30 días. En la solución de lavado concentrada es posible observar la presencia de cristales. En ese caso, agitar a temperatura ambiente hasta que los cristales se disuelvan por completo. Para una mayor precisión, diluir todo el frasco de la solución de lavado concentrada a 500 mL, teniendo cuidado para transferir también los cristales y, a continuación, agitar hasta que se disuelvan por completo.

6.4. Procedimiento

- **Esperar hasta que todos los reactivos se encuentren a temperatura ambiente (22-28°C) durante al menos 30 minutos.** Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2-8°C para evitar largos periodos a temperatura ambiente.
- Las tiras de pocillos no utilizados se deben guardar de inmediato
- Las tiras de pocillos no utilizados se deben guardar de inmediato en la bolsa desechable que contiene desecantes y almacenarse a 2-8°C.
- Para evitar la contaminación microbiana y/o química no regrese porciones de reactivos no usados en los viales originales.
- Para aumentar la precisión de los resultados de la prueba es necesario trabajar en duplicado: preparar dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C₀-C₄), dos para cada control, dos para cada muestra, uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/ Controles	Blanco
Calibrador C ₀ -C ₄	100 µL		
Controles		100 µL	
Muestra diluida		100 µL	

Incubar 45 minutos a 37°C. Retirar el contenido de cada pocillo y lavar los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida. Nota importante: agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso del lavado. Después del último lavado asegúrese haber eliminado completamente la solución de lavado de los pozos, invierta la placa y golpéela repetidas veces contra una servilleta de papel absorbente. Lavados automático: si está utilizando una lavadora automática, lavar los pocillos al menos 5 veces.			
Conjugado	100 µL	100 µL	
Incubar 45 minutos a 37°C . Retirar el contenido de cada pocillo y lavar los pocillos tres veces con 300 µL de solución de lavado diluida. Lavados: siga las mismas instrucciones del punto anterior.			
Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
Incubar 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (22-28 °C).			
Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
Agitar la placa con cuidado. Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco entre 5 minutos.			

7. RESULTADOS

7.1. Curva de calibración

Para Anti dsDNA IgG, el método de elección para el tratamiento de los resultados es un procesamiento de 4 parámetros con ejes lin-log para la densidad óptica y la concentración respectivamente. Además, se pueden usar una aproximación spline y coordenadas log-log. Sin embargo, se recomienda usar una curva Lin-Log.

En primer lugar, calcular la media de las densidades ópticas relativas a los calibradores. Usar una hoja de papel lin-log y trazar las densidades ópticas medias de cada calibrador frente a la respectiva concentración. Dibujar la curva que mejor se aproxime a todos los puntos de calibración. Los puntos de los calibradores también pueden unirse con segmentos de línea recta. La concentración de las muestras desconocidas puede determinarse por interpolación de la curva de calibración.

8. VALORES DE REFERENCIA

Se han determinado los siguientes intervalos de normalidad con el ensayo Anti dsDNA IgG:

	Anti dsDNA IgG (IU/mL)
Normal	< 25
Alto	> 25

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

Los resultados positivos deben verificarse con relación al estado clínico del paciente. Además, cada decisión relativa a la terapia debe tomarse individualmente. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos normal y patológico de anticuerpos anti- dsDNA séricos.

9. PARÁMETROS CARACTERÍSTICOS

9.1. Especificidad

Ensayos de correlación frente a un kit similar de referencia disponible en el mercado, realizados con 100 sueros (50 positivos y 50 negativos) han mostrado una especificidad > 99%.

9.2. Sensibilidad

Ensayos de correlación frente a un kit similar de referencia disponible en el mercado, realizados con 100 sueros (50 positivos y 50 negativos) han mostrado una sensibilidad > 99%.

9.3. Límite de detección

La concentración mínima de anti dsDNA IgG que puede distinguirse del Calibrador cero es de 0,135 IU/mL.

10. DISPOSICIONES PARA LA ELIMINACIÓN

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con las leyes locales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Condemi, Jhon J. The autoimmune disease. The Journal of the American Medical Association 1987; Vo 258 n 20 2920 - 2929
2. Reichlin, M., Van Venrooij, W. J.: Autoantibodies to UNRP particles: relationship to clinical diagnosis and nephritis. Clin.exp.Immunol. 1991; 83:286-90.
3. Tan EM, et al.: The 1982 Revised Criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis and Rheumatism 25: 1271-1277, 1982.
4. McCarty GA. Autoantibodies and their relation to rheumatic diseases. Medical Clinics of North America 70: 237-261, 1986.
5. Hardin JA. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. Arth Rheum 29: 457-460, 1986.
6. The first international standard for antibody to double stranded DNA. Annals of the Rheumatic Disease 198; Vo 47: 740 - 746
7. Homburger HA, et al: detection of Antinuclear antibodies, comparative evaluation of enzyme immunoassay and indirect immunofluorescence methods. Arch Pathol Lab Med 122:993-999 (1998)

8. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA. Comparison of IFT on Crithidia Lucilaie, FARR assay and PEG assay. The journal of Immunology 1982 Vo 128 n.1. 73 -78

Ed. 03/2024

DCM095-8

	DE <i>In vitro</i> Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico <i>In vitro</i> FR Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> EN <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> PT Dispositivos medicos de diagnostico <i>in vitro</i>		DE Hergestellt von ES Elaborado por FR Fabriqué par EN Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
	DE Achtung, Begleitdokumente ES Precaución, consulte los documentos adjuntos FR Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement EN Caution, consult accompanying documents IT Attenzione, consultare la documentazione allegata PT Atenção, consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricacion FR Date de fabrication EN Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Estable hasta (usar antes de último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) EN Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesco biológico FR Risque biologique EN Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones FR Consulter le mode d'emploi EN Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung ES Código de lote FR Numero de lot EN Batch code IT Codice del lotto PT Código do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "n" Tests ES Contenido suficiente para "n" tests FR Contenu suffisant pour "n" tests EN Contains sufficient for "n" tests IT Contenuto sufficiente per "n" saggi PT Contém o suficiente para "n" testes		DE Inhalt ES Contenido del estuche FR Contenu du coffret EN Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Limitación de temperatura FR Limites de température de conservation EN Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue EN Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo
	DE Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen ES Mantener alejado de la luz solar FR Tenir à l'écart de la lumière du soleil EN Keep away from sunlight IT Tenere lontano dalla luce solare PT Mantenha longe da luz solar		