

# QUANTA Lite™ RNA Pol III

# 704555

Para Diagnóstico *In Vitro*

Complejidad de CLIA: Alto

## Aplicación

El ELISA QUANTA Lite™ RNA Pol III es un análisis inmunoenzimático por adsorción semicuantitativo para la detección de anticuerpos IgG anti-RNA polimerasa III en suero humano. La presencia de dichos anticuerpos, valorada conjuntamente con otros resultados clínicos y de laboratorio, ayuda a diagnosticar la esclerosis sistémica (esclerodermia) con afectación cutánea difusa y crisis renales.

## Sumario y Explicación de la prueba

Los autoanticuerpos contra el antígeno RNA Pol III se encuentran en el 11-23% de los pacientes con esclerosis sistémica.<sup>1-8</sup> Los pacientes con positividad para anticuerpos anti-RNA Pol III no presentan ninguno de los demás anticuerpos que suelen encontrarse en pacientes con esclerosis sistémica, como los anticuerpos anti-centrómero, anti-Scl-70 y anti-Pm/Scl.<sup>6</sup> Por tanto, dichos pacientes forman un grupo serológico separado. Numerosos estudios han demostrado que estos pacientes tienen un mayor riesgo de sufrir la forma cutánea difusa del escleroderma y un elevada probabilidad de desarrollar afectación cutánea y nefropatía hipertensiva.<sup>1-8</sup>

En pacientes con esclerosis sistémica se encuentran anticuerpos contra varios tipos diferentes de RNA polimerasa.<sup>4,5</sup> El epítipo inmunodominante de la RNA Pol III se ha identificado y clonado.<sup>3</sup> El epítipo inmunodominante recombinante de la RNA Pol III ha puede ser utilizado el ELISA con una alta especificidad para detectar anticuerpos anti-RNA Pol III en pacientes con la forma cutánea difusa de la esclerosis sistémica y con una gran incidencia de afectación cutánea.<sup>1</sup>

## Procedimiento de trabajo

El fragmento inmunodominante recombinante purificado del antígeno RNA Pol III se une a las paredes de una placa de pocillos de poliestireno. Se añaden controles y muestras convenientemente diluidas en pocillos separados, uniéndose durante la incubación los anticuerpos anti-RNA Pol III al antígeno que los recubre. El resto de componentes no unidos se elimina mediante lavado y se añade conjugado anti IgG humana a cada pocillo. Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una a los anticuerpos presentes. Tras un lavado que elimina el conjugado sobrante, se añade un sustrato cromógeno y tras incubación la actividad enzimática presente en el pocillo es proporcional a la intensidad de color desarrollado. El ensayo puede ser evaluado fotométricamente comparando la intensidad de color en las muestras con la de los controles.

## Reactivos

1. La placa microperforada de poliésterino utilizada en los análisis ELISA se cubre de RNA Pol III antigene purificados (12-1 x 8 pocillos), envasada en su soporte en una bolsa de aluminio con desecante
2. Control negativo ELISA, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano ausente de anticuerpos humanos RNA Pol III, (lista para su uso), prediluido, 1.2 ml
3. Control ELISA RNA Pol III Positivo Débil, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos RNA Pol III, (lista para su uso), prediluido, 1.2 ml
4. Control ELISA RNA Pol III Positivo Fuerte, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos RNA Pol III, (lista para su uso), prediluido, 1.2 ml
5. Diluyente de Muestra HRP, 1 frasco color rosado conteniendo tampón con Tris, Tween 20 y conservante, 50 ml
6. Solución de Lavado Concentrada HRP, 1 frasco de concentrado 40x color rojo conteniendo tampón con Tris y Tween 20, 25ml. Referirse a la Sección "Metodología" para instrucciones de dilución.
7. Conjugado HRP IgG, con anti- IgG humana de cabra, 1 frasco - color azul conteniendo tampón, estabilizante de proteína y conservante, 10ml
8. Cromógeno TMB, 1 frasco conteniendo estabilizantes, 10ml
9. Solución de Parada HRP, Acido Sulfúrico 0.344 M, 1 frasco, incolora, 10 ml

## Advertencias

1. Aviso: Este producto contiene cloramfenicol al 0.02% en el Diluyente de muestras, controles y conjugado considerado en el estado de California como causante de cáncer.
2. Todo material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto se ha examinado resultando negativo para anticuerpos contra HIV, HBsAg, y HCV por métodos aprobados por la FDA. Ningún método puede sin embargo ofrecer garantía completa que HIV, HBV, HCV o otros agentes contagiosos estén ausentes. Por lo tanto, los controles RNA Pol III ELISA positivo fuerte, RNA Pol III ELISA positivo débil y ELISA negativo deben manejarse como si fueran material potencialmente contagioso.<sup>9</sup>
3. Dado que se utiliza azida sódica como conservante, este producto puede ser tóxico por ingestión o absorción a través de piel o mucosas. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o cobre de las tuberías para formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si se utilizan desagües para la eliminación de reactivos se recomienda lavarlos con abundante agua para prevenir la formación de dichas azidas metálicas.
4. El Conjugado HRP contiene diluido un producto químico venenoso y corrosivo que puede ser tóxico si se ingiere. Para impedir quemaduras, evitar el contacto con piel o ojos.

5. El Cromógeno TMB contiene un irritante. Puede ser dañino si es inhalado, ingerido o absorbido por la piel. Evitar la inhalación, ingestión o contacto con piel y ojos.
6. La Solución de parada HRP consiste de una solución diluida de ácido sulfúrico. Evitar exposición a bases, metales, u otros compuestos que puedan reaccionar con ácidos. El ácido Sulfúrico es venenoso y corrosivo, puede ser tóxico si ingerido. Para impedir quemaduras, evitar contacto con piel y ojos.
7. Se recomienda utilizar el equipo protector apropiado al trabajar con este kit.
8. Los reactivos derramados deben limpiarse inmediatamente. Siga las normas aplicables en su laboratorio acerca de la eliminación de residuos.

## Precauciones

1. Este producto es para ser usado en el Diagnóstico *In Vitro*.
2. La sustitución de componentes diferentes de los incluidos en el sistema puede generar resultados inconsistentes.
3. Un lavado incompleto o ineficiente y una eliminación insuficiente de líquido de los pocillos puede dar lugar a una pérdida de precisión y/o un fondo elevado.
4. La adaptación de este ensayo para su uso en procesadores automáticos u otros dispositivos, totalmente o en parte, puede producir diferencias en los resultados en comparación con el procedimiento manual. Es responsabilidad de cada laboratorio de validar sus procedimiento automatizado y comprobar que produce resultados dentro de los límites aceptables.
5. Existe una variedad de factores que influyen en la realización del ensayo. Esto incluye la temperatura inicial de los reactivos, la temperatura ambiente, la exactitud y reproducibilidad de técnica de pipeteo, la calidad de la técnica de lavado, el fotómetro que se utiliza para medir los resultados, y los tiempos de incubación durante el ensayo. Es necesario un exquisito cuidado y un trabajo consistente para obtener resultados exactos y reproducibles.
6. Se recomienda seguir estrictamente el protocolo.
7. El sellado incompleto de la bolsa "zip-lock" que contenga tiras sin usar y desecante provocará la degradación del antígeno que se apreciará en un empeoramiento de la precisión de resultados.
8. Pueden observarse absorbancias inaceptablemente bajas tras **dos** o más usos separados de un conjugado HRP. Es importante seguir todas las recomendaciones de manipulación específicas para este producto para evitar que esto ocurra.
9. La contaminación química del conjugado HRP puede ocurrir como resultado de una limpieza o secado inadecuados del equipo o instrumentos. Residuos de productos químicos comunes en el laboratorio como formalina, lejía, etanol, o detergente causan la degradación del conjugado HRP con el tiempo. Enjuague bien todo equipo o instrumentos después de usar dichos productos.

## Condiciones de Almacenaje

1. Guardar todos los reactivos del kit en nevera a 2-8°C. No congelar. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad si son almacenados y manipulados correctamente.
2. Las tiras sin utilizar deben volverse a guardar en la bolsa de aluminio que contiene desecantes cerrándola herméticamente y almacenándola a 2-8°C.
3. La solución de lavado diluida es estable 1 semana a 2-8°C.

## Recolección de Muestras

Este kit requiere suero como muestra. La adición de azida u otros conservantes a las muestras puede afectar adversamente los resultados. No deben utilizarse muestras contaminadas, tratadas por calor o que contengan partículas visibles. Deben asimismo evitarse las muestras lipémicas o hemolizadas.

Tras la recolección de las muestras de sangre, el suero debe ser separado del coágulo. El documento CLSI (NCCLS) H18-A3 recomienda las siguientes condiciones de almacenaje para muestras: 1) Guardar las muestras a temperatura ambiente no más de 8 horas. 2) Si el ensayo no se va completar en 8 horas, refrigerar la muestra a 2-8°C. 3) Si el ensayo no se va completar entre 48 horas, o para enviar las muestras, congelar a -20°C o a temperatura inferior. Una vez descongeladas las muestras deben agitarse bien antes de utilizarse.<sup>10</sup>

## Procedimiento

### Materiales Suministrados

- |   |   |
|---|---|
| 1 | Microplaca RNA Pol III ELISA (12-1 x 8 pocillos), con soporte                   |
| 1 | 1.2ml control prediluido (lista para su uso), ELISA negativo                    |
| 1 | 1.2ml control prediluido (lista para su uso), RNA Pol III ELISA Positivo Débil  |
| 1 | 1.2ml control prediluido (lista para su uso), RNA Pol III ELISA Positivo Fuerte |
| 1 | 50ml Diluyente de muestra HRP   |
| 1 | 25ml Solución de lavado concentrada 40X   |
| 1 | 10ml Conjugado IgG (cabra) anti IgG humana                                      |
| 1 | 10ml Cromógeno TMB  |
| 1 | 10ml Solución parada HRP (Ácido Sulfúrico 0.344M)                               |

### Material necesario no incluido

Micropipetas para 5, 100, 200-300 y 500µl  
 Puntas desechables para micro pipeta  
 Tubos para dilución de muestras, 4ml  
 Agua destilada

Recipiente de 1L para la solución de lavado reconstituida

Lector de microplacas capaz de medir densidades ópticas a 450nm (y a 620nm para lecturas de doble longitud de onda)

## Metodología

### Antes de empezar

1. Llevar todos reactivos y muestras a la temperatura ambiente (20-26°C) y agitar.
2. Diluir la solución de lavado HRP 1:40 añadiendo el contenido del envase con concentrado a 975 ml de agua destilada. Si no va a utilizar toda la placa, puede preparar una cantidad menor de solución de lavado añadiendo 2.0 ml del concentrado a 78ml de agua destilada para cada 16 pocillos que vayan a utilizarse. El tampón diluido es estable 1 semana a 2-8°C.
3. Preparar una dilución 1:101 de cada muestra a procesar añadiendo 5 µl de muestra a 500 µl de diluyente. Las muestras diluidas deben ser utilizadas dentro de las 8 horas de su preparación. **NO DILUIR** los controles RNA Pol III ELISA positivo débil, positivo fuerte y ELISA negativo.
4. La determinación de la presencia o ausencia de anti-RNA Pol III usando unidades arbitrarias requiere dos pocillos para cada uno de los tres controles y uno o dos pocillos para cada muestra. Se recomienda que las muestras se hagan por duplicado.

### Procedimiento de Ensayo

1. **TODOS REACTIVOS DEBEN ESTAR A TEMPERATURA AMBIENTE (20-26°C) ANTES DE EMPEZAR EL ENSAYO.** Ponga el número necesario de tiras en el soporte. **Devolver inmediatamente las tiras sin utilizar a la bolsa de aluminio y sellarla firmemente para minimizar la exposición a la humedad.**
2. Agregar 100µl de los controles **prediluidos** RNA Pol III ELISA Positivo Débil, RNA Pol III ELISA Positivo Fuerte, ELISA Negativo y las muestras prediluidas a los pocillos. Cubrir los pocillos e incubar 30 minutos a temperatura ambiente en una superficie plana. El tiempo de incubación empieza después de la adición de la última muestra.
3. Lavado: Aspirar el contenido de cada pocillo. Agregar 200-300µl de solución de lavado a todos pocillos y aspirar. Repetir esta secuencia dos veces más para un total de tres lavados. Invertir la placa y golpearla suavemente en material absorbente para eliminar cualquier fluido residual tras el último lavado. Es importante que cada pocillo esté completamente vacío después de cada paso de lavado. Mantener la misma secuencia para la aspiración que la usada para la adición de muestras.
4. Agregar 100µl de Conjugado IgG HRP a cada pocillo. El conjugado debe pipetarse en las condiciones más asépticas posibles y siguiendo buenas técnicas de laboratorio. Aspirar solamente la cantidad de conjugado necesaria para el ensayo. **PARA EVITAR CUALQUIER CONTAMINACIÓN POTENCIAL MICROBIANA Y/O QUÍMICA, NUNCA DEVOLVER EL CONJUGADO SIN USAR A SU RECIPIENTE ORIGINAL.** Incubar los pocillos 30 minutos como en el paso 2.
5. Lavado: Repetir el paso 3.
6. Agregar 100µl de Cromógeno TMB a cada pocillo e incubar 30 minutos en **oscuridad** a temperatura ambiente.
7. Agregar 100µl de Solución de parada a cada pocillo. Mantener la misma secuencia y temporalización que la efectuada en la adición de Cromógeno. Agitar suavemente la placa para mezclar bien los pocillos.
8. Leer la absorbancia (DO) de cada pocillo a 450nm en un plazo máximo de una hora. Si se desea seguir el método de lectura bicromática puede utilizarse 620 nm como longitud de onda de referencia.

### Control de Calidad

1. Los controles RNA Pol III ELISA Positivo Débil, RNA Pol III ELISA Positivo Fuerte y Control Negativo ELISA deben procesarse con cada lote de muestras para asegurar que todos reactivos y procedimientos funcionan correctamente.
2. El usuario debe notar que debido a que los controles RNA Pol III ELISA Positivo Débil, RNA Pol III ELISA Positivo Fuerte y ELISA Negativo son **prediluidos**, no controlan procedimientos asociados con dilución de especímenes.
3. Pueden añadirse controles adicionales según las directivas o requisitos del laboratorio. Pueden prepararse controles válidos haciendo alícuotas de un "pool" de suero humano que debe almacenarse a  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ .
4. Para considerar válidos los resultados deben considerarse satisfechos todos los criterios especificados a continuación, si alguno de ellos no se cumple la prueba debe considerarse inválida y repetirse.
  - a. La absorbancia del control RNA Pol III Positivo debe ser superior a la del control RNA Pol III positivo débil y la de este debe ser superior a la del control negativo.
  - b. El control RNA Pol III positivo fuerte debe tener una absorbancia mayor que 1.0 mientras que la del control negativo no debe exceder de 0.2.
  - c. La absorbancia del control RNA Pol III positivo débil debe ser superior al doble del control negativo, u oscilar entre 0.25 y 0.6 unidades de densidad óptica.
  - d. Los controles ELISA negativo y RNA Pol III positivo fuerte están pensados para monitorizar problemas de reactivo de magnitud substancial. El control RNA Pol III positivo fuerte no puede asegurar precisión alguna en el punto de corte del ensayo.
  - e. El usuario puede referirse al documento CLSI (NCCLS) (National Committee of Clinical Laboratory Standards) C24-A3 para una guía adicional acerca de buenas prácticas de laboratorio.<sup>11</sup>

## Cálculo de Resultados

Debe determinarse en primer lugar el promedio de densidades ópticas de cada juego de duplicados. La reactividad para cada muestra se calcula dividiendo la densidad óptica promedio de la muestra por la densidad óptica promedio del control RNA Pol III positivo débil.

$$\text{Valor de la Muestra (unidades)} = \frac{\text{DO Muestra}}{\text{DO ELISA Positivo Débil}} \times \text{Valor ELISA Positivo Débil (unidades)}$$

La reactividad de la muestra está relacionada de manera no lineal con la cantidad de anticuerpo presente. Mientras que los aumentos y disminuciones en la concentración de anticuerpos del paciente se reflejarán en el aumento o disminución correspondiente de la reactividad, los cambios no son proporcionales (por ejemplo, al doblarse la concentración de anticuerpo no se dobla la reactividad). Si se deseara una cuantificación más precisa de la cantidad de anticuerpo, puede informarse como el título de anticuerpo de la muestra la última dilución positiva de una serie de diluciones seriadas de la muestra.

## Interpretación de los Resultados

La técnica ELISA es muy sensible y es capaz de detectar pequeñas diferencias entre poblaciones de pacientes. Los valores presentados a continuación son sólo valores sugeridos. Cada laboratorio debe establecer su propio rango normal basado en su propia metodología, controles, equipo y población de pacientes.

La muestra puede clasificarse con un valor negativo, positivo débil, positivo moderado o positivo fuerte según la tabla siguiente.

	Unidades
Negativo	<20
Positivo Débil	20 – 39
De positivo moderado	40-80
Positivo Fuerte	>80

1. Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos anti-RNA Pol III y sugiere la posibilidad de esclerosis sistémica.
2. Un resultado negativo indica la ausencia de anticuerpos RNA Pol III o niveles inferiores al punto de corte del ensayo.

## Limitaciones del Procedimiento

1. La presencia de inmunocomplejos u otros agregados de inmunoglobulina en la muestra del paciente puede aumentar el nivel de uniones no específicas y producir falsos positivos en este ensayo.
2. No todos los pacientes con esclerosis sistémica presentan positividad para la RNA Pol III. Según estudios de inmunoprecipitación y ELISA, solo del 11% al 23% de los pacientes con esclerosis sistémica presentan anticuerpos contra la RNA Pol III.
3. Los resultados de este ensayo deben utilizarse conjuntamente con hallazgos clínicos y otras pruebas serológicas.
4. La funcionalidad del ensayo no ha sido establecida para matrices diferentes del suero.

## Valores Esperados

La capacidad del ELISA QUANTA Lite™ RNA Pol III para detectar anticuerpos anti-RNA Pol III se ha evaluado mediante la realización de varios estudios con pacientes clínicamente definidos y la comparación con el ELISA RNA Polymerase III comercialmente disponible. En la tabla siguiente puede consultar la comparación de resultados de la bibliografía y del ELISA QUANTA Lite™ RNA Pol III.

Tabla 1. Prevalencia de anticuerpos anti-RNA Pol III en diversas enfermedades

Enfermedad	# Total	Literatura <sup>1,2,5-8</sup>		INOVA RNA Pol III ELISA		
		# anti-RNA Pol III Pos	% Pos	# Total	# anti-RNA Pol III Pos	% Pos
Todo ES <sup>1,2,5-8</sup>	2323	356	15%	1737	394	23%
LES <sup>1,5</sup>	177	3	2%	30	0	0%
EMTC <sup>5</sup>	49	0	0%	ND		
PM/DM <sup>1</sup>	50	0	0%	ND		
AR <sup>1</sup>	84	1	1%	30	0	0%
Primary ES <sup>1</sup>	32	1	3%	ND		
EITC <sup>2,6</sup>	243	0	0%	ND		
DSN <sup>1,2,5</sup>	360	4	1%	564	2	0.4%
Nucleolar <sup>5</sup>	200	3	2%	ND		
EI	ND			42	2	5%
Todos los controles	968	12	1%	666	4	1%

Abreviaturas: Pos=positivo; ES=esclerosis sistémica; LES=lupus eritematoso sistémico; EMTC=enfermedad mixta del tejido conectivo; PM/DM=polimiositis/dermatomiositis; AR=artritis reumatoide; EITC=enfermedad indiferenciada del tejido conectivo; DSN=donante de sangre normal; Nucleolar=patrón nucleolar de inmunofluorescencia; EI=enfermedad infecciosa. Las referencias 1 y 5 han empleado ELISA, la 2 transferencia de Western, y las referencias 6, 7 y 8 radioinmuno precipitación.

Tabla 2. Aparición de síntomas en pacientes con positividad para anti-RNA Pol III

# anti-RNA Pol III Pos	# Cutánea difusa	%	# Limitada o superpuesta	%	# Crisis renal	%
319	264	83%	55	17%	86	27%

De las referencias 1, 2 y 5-8.

## Rango Normal

Se realizaron pruebas de anticuerpos contra el antígeno RNA Pol III en 527 donantes de sangre seleccionados aleatoriamente y residentes en EEUU. Solo 2 muestras (0.4%) superaron el umbral de 20 unidades, con valores de 27 y 39 unidades. El valor medio de las 527 muestras fue de 3.4 unidades. La desviación estándar de las muestras fue de 2.6 unidades. El valor medio es de 6.4 desviaciones estándar por debajo del valor límite de 20 unidades.

## Características específicas de rendimiento

Comparación con otros ensayos comercializados con la misma finalidad

En total se han analizado 51 muestras, en dos laboratorios clínicos y con los ELISA QUANTA Lite™ RNA Pol III de INOVA y RNA Polymerase III de MBL. Los resultados figuran a continuación.

INOVA QUANTA Lite™ RNA Pol III	Comercialmente Disponible Anti-RNA Polymerase III ELISA		
		Pos	Neg
	Pos	32	0
Neg	2	17	

Porcentaje de concordancia positivo: 32/34 (94%; 95% Intervalo de confianza=80-99%)

Porcentaje de concordancia negativo: 17/17 (100%; 95% Intervalo de confianza=80-100%)

Concordancia global: 49/51 (96%)

## Estudios clínicos

Se efectuaron dos tipos de estudios clínicos. En uno de ellos se realizaron pruebas con el ELISA QUANTA Lite™ RNA Pol III a 1319 pacientes con esclerosis sistémica y 37 donantes de sangre normales en los que se había analizado previamente la presencia de anti-RNA Pol III por radioinmunoprecipitación (RIP). El ELISA tiene una positivo porcentaje concordancia del 96% y una negativo porcentaje concordancia del 98% en comparación con el análisis de radioinmunoprecipitación.

Porcentaje de resultados coincidentes, positivos y negativos, entre el ELISA RNA Pol III y la RIP

Todos las muestras N=1,356		RNA Pol III por RIP		Positivo % Concordancia (95% CI)	Negativo % Concordancia (95% CI)
Concordancia = 97.5%		+	-		
RNA Pol III por ELISA	+	320	20*	96% (93-98%)	98% (97-99%)
	-	14**	1,002		

\* Todos 20 ellos diagnosticados con ES

\*\*Todos 14 ellos diagnosticados con ES

En 418 pacientes adicionales con esclerosis sistémica y 629 donantes de sangre o personas con enfermedades infecciosas o autoinmunes se realizaron pruebas solamente con el ELISA QUANTA Lite™ RNA Pol III, lo que nos ha permitido calcular la sensibilidad y especificidad clínicas.

Sensibilidad y Especificidad Clínicas de QUANTA Lite™ Anti-RNA Pol III ELISA

N=2,403	RNA Pol III por ELISA		Clínicas Especificidad (95% CI)	Clínicas Sensibilidad
	+	-		
Todo Controles N = 666	4	662	99% (98.5-99.8%)	
Todo SSc N= 1737	394	1343		23% (20.7-24.7%)

La especificidad clínica del ELISA RNA Pol III es superior al 99%. La sensibilidad clínica es del 23%, lo que concuerda bien con la bibliografía publicada.

## Reactividad Cruzada

Para detectar posibles problemas de reactividad cruzada con otros autoanticuerpos, se analizó una serie de muestras positivas a autoanticuerpos con un alto nivel de títulos utilizando el kit QUANTA Lite™ RNA Pol III ELISA. Las especificidades incluyeron SS-A, SS-B, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, Chromatin, Ribo-P, CCP y diversas enfermedades infecciosas. No hubo constancia de reactividad cruzada.

## Precisión y Reproducibilidad

Se evaluó el rendimiento intra-ensayo para el kit QUANTA Lite™ RNA Pol III ELISA analizando 9 especímenes un total de 9 veces cada uno en 2 porciones de kits. Los resultados representativos se indican a continuación.

Rendimiento intra-ensayo del método ELISA para QUANTA Lite™ RNA Pol III ELISA

	P2	P3	P4	P5	MP773	int 148
Unidades medias	22 U	31 U	26 U	90 U	58 U	2 U
Desviación estándar	0.7	1.3	0.6	1.5	1.5	0.1
Coefficiente de variación %	3%	4%	2%	2%	3%	5%

La variación interensayo se ha evaluado analizando al menos 12 especímenes en cada uno de 2 porciones de kits en por lo menos 5 diversos funcionamientos. Los resultados representativos se indican a continuación.

**Rendimiento intra-ensayo del método ELISA para QUANTA Lite™ RNA Pol III ELISA**

	P2	P3	P4	P5	MP773	int 148
Unidades medias	23 U	32 U	27 U	91 U	62 U	3 U
Desviación estándar	0.5	1.6	1.2	3.5	1.4	0.2
Coefficiente de variación %	2%	5%	4%	4 %	2 %	5%

**Referencias**

1. Kuwana M, et al.: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of anti-RNA polymerase III antibody: analytical accuracy and clinical associations in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 52: 2425-2432, 2005.
2. Okano Y, Steen VD, Medsger Jr.TA: Autoantibody reactive with RNA polymerase III in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 119:1005-1013, 1993.
3. Kuwana M, Kimura K, Kawakami Y.: Identification of an immunodominant epitope on RNA polymerase III recognized by systemic sclerosis sera: application to enzyme-linked immunosorbent assay. *Arthritis Rheum* 46: 2742-2747, 2002.
4. Steen VD and Medsger TA.: Long term outcomes of scleroderma renal crisis. *Ann Intern Med* 133:600-603, 2000.
5. Chang M, et al.: Analysis of autoantibodies against RNA polymerases using immunoaffinity-purified RNA polymerase I, II, and III antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Immunol Immunopathol.* 19: 71-78, 1998.
6. Bunn CC, et al.: Anti-RNA polymerases and other autoantibody specificities in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol.* 37: 15-20, 1998.
7. Harvey GR, et al.: Clinical and serological associations with anti-RNA polymerase antibodies in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 117:395-402, 1999.
8. Meyer OC, et al.: Disease subsets, antinuclear antibody profile, and clinical features in 127 French and 247 US adult patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 34:104-109, 2007.
9. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 2007 Fifth Edition.
10. CLSI (NCCLS). Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document H18-A3, Vol 24 (38), 2004.
11. CLSI (NCCLS). Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline- 3<sup>rd</sup> edition NCCLS Document C24-A3, Vol. 26 (25), 2006

Fabricante:

INOVA Diagnostics, Inc.  
9900 Old Grove Road  
San Diego, CA 92131  
United States of America

Representante Autorizado:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH  
Altenhofstrasse 80  
D-66386 St. Ingbert, Germany  
Tel.: +49-6894-581020  
Fax.: +49-6894-581021  
[www.mt-procons.com](http://www.mt-procons.com)

Technical Service  
624555

888-545-9495  
June 2007  
Revision ESP0

