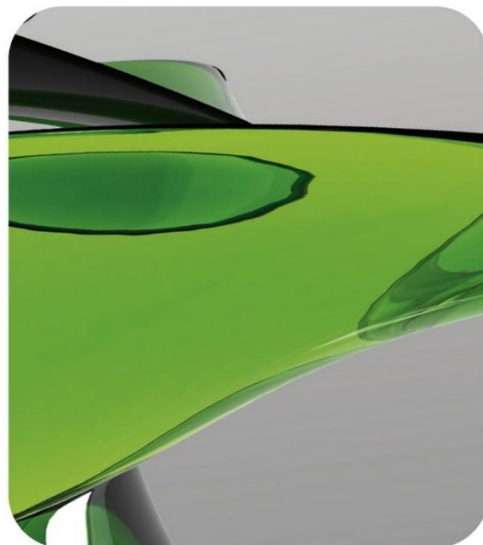




**AESKU.DIAGNOSTICS**  
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



**AESKULISA®**

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# INSTRUCTION MANUAL

**AESKULISA® ANA-HEp-2 quantitative**

*Ref 3119*





# Manuel d'instructions

## Contenu

|    |                                                        |    |
|----|--------------------------------------------------------|----|
| 1  | Usage prévu .....                                      | 1  |
| 2  | Application Clinique et Principe du Test.....          | 1  |
| 3  | Contenu du kit.....                                    | 2  |
| 4  | Stockage et durée de conservation.....                 | 2  |
| 5  | Précautions d'emploi.....                              | 3  |
| 6  | Recueil d'échantillons, manipulation et stockage ..... | 4  |
| 7  | Procédure du Test .....                                | 4  |
| 8  | Interprétation quantitative et qualitative.....        | 7  |
| 9  | Données techniques .....                               | 8  |
| 10 | Données relatives à la performance.....                | 8  |
| 11 | Bibliographie .....                                    | 9  |
| 12 | Symboles réglementaires.....                           | 10 |



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG  
 Mikroforum Ring 2  
 55234 Wendelsheim  
 Germany  
 Phone: +49 6734 9622-0  
 Fax: +49 6734 9622-2222  
 Website: [www.aesku.com](http://www.aesku.com)  
 Mail: [info@aesku.com](mailto:info@aesku.com)

## 1 Usage prévu

**AESKULISA® ANA-HEp-2 quantitative** est un enzyme-immunoessai en phase solide pour la détection quantitative et qualitative combinée d'anticorps IgG contre les cellules HEp2 dans le sérum humain. Chaque puits est enduit de cellules HEp2 lysées. Le test détecte collectivement, dans un puits, des anticorps antinucléaires (ANA) totaux anti-dsADN (contre l'ADN à deux brins), anti-histones, anti-SS-A (anti-Ro), anti-SS-B (anti-La), anti-Sm, anti-snRNP/Sm, anti-Scl-70, anti-PM-Scl, anti-Jo-1 et contre les protéines centromériques avec des sérums qui sont positifs dans le test d'immunofluorescence (IFI) sur cellules HEp2.

L'essai sert au diagnostic des maladies rhumatiques systémiques comme le lupus érythémateux systémique (LES), les maladies mixtes du tissu conjonctif ou mixed connective tissue diseases (MCTD), la sclérodermie, le syndrome de Sjögren, la polymyosite et la dermatomyosite.

## 2 Application Clinique et Principe du Test

Les anticorps antinucléaires (ANA) dirigés contre une variété d'antigènes nucléaires et cytoplasmiques sont très fréquemment présents dans les maladies rhumatiques systémiques et, par conséquent, ils représentent une aide importante pour le diagnostic différentiel. Par exemple, les anticorps anti-SS-A (anti-Ro) et anti-SS-B (anti-La) sont associés au LES et au syndrome de Sjögren (SS), les anticorps anti-dsADN et anti-Sm au LES, les anticorps anti-histones au LES et au lupus induit par les médicaments, les anticorps anti-RNP aux maladies mixtes du tissu conjonctif (MCTD) et au LES, les anticorps anti-Scl-70 à la sclérodermie (sclérose systémique progressive (SSP) ou en anglais progressive systemic sclerosis (PSS)), les anticorps anti-Jo-1 à la polymyosite et à la dermatomyosite, et les anticorps anti-centromères sont associés au syndrome CREST.

Le test d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur des cellules eucaryotiques, comme les cellules HeLa et HEp2, représente la méthode qui a été établie pour le dépistage des ANA.

Bien que l'IFI soit un test sensible, il est laborieux quand on souhaite analyser un grand nombre d'échantillons de patients et il est sujet à des erreurs d'interprétation humaine ou dues à la variabilité des microscopes à fluorescence. Le système de tests ELISA représente une excellente alternative pour l'IFI, afin de détecter la présence d'anticorps antinucléaires d'importance clinique dans le sérum des patients. Les spécificités des anticorps doivent être déterminées à travers une analyse plus spécifique permise par les tests ELISA, qui emploient les antigènes cibles spécifiques pour une différenciation simple et fiable des ANA.

### Principe du test

Les échantillons de sérum dilué au 1:101ème sont incubés dans les microplaques sensibilisées avec l'antigène spécifique. Les anticorps du patient présents dans l'échantillon se lient à l'antigène. La fraction non liée est alors éliminée par lavage. Des immunoglobulines anti-humaines marquées à la peroxydase de raifort (conjugué) sont ensuite incubées et réagissent avec le complexe antigène-anticorps fixé sur les microplaques. Le conjugué non lié est alors éliminé par lavage. L'addition de substrat TMB (tétra-méthyl-benzidine) provoque une réaction enzymatique colorée (bleue), stoppée par de l'acide dilué (la couleur vire alors au jaune). L'intensité de la couleur qui se développe à partir du chromogène dépend de la quantité de conjugué lié au complexe antigène-anticorps et est proportionnelle à la concentration initiale de chaque anticorps dans l'échantillon patient.



### 3 Contenu du kit

| À RECONSTITUER                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                           |                    |                        |                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Élément                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Quantité                  | Couleur du bouchon | Couleur de la solution | Description / Contenu                                                                                                                                   |
| Tampon échantillons (5x)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1 x 20 ml                 | Blanc              | Jaune                  | Concentré 5 x Tris, chlorure de sodium (NaCl), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)                                      |
| Tampon de lavage (50x)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1 x 20 ml                 | Blanc              | Vert                   | Concentré 50 x Tris, NaCl, Tween 20, azide de sodium < 0,1 % (conservateur)                                                                             |
| PRÊT À L'EMPLOI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                           |                    |                        |                                                                                                                                                         |
| Élément                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Quantité                  | Couleur du bouchon | Couleur de la solution | Description / Contenu                                                                                                                                   |
| Contrôle négatif                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 1 x 1,5 ml                | Vert               | Incolore               | Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)                                                               |
| Contrôle positif                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 1 x 1,5 ml                | Rouge              | Jaune                  | Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)                                                               |
| Cut-off Étalon                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 1 x 1,5 ml                | Bleu               | Jaune                  | Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)                                                               |
| Étalons                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 6 x 1,5 ml                | Blanc              | Jaune *                | Concentration de chaque étalon : 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur) |
| Conjugué, IgG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1 x 15 ml                 | Bleu               | Bleu                   | Contenu : Immunoglobulines antihumaines conjuguées à la peroxydase de raifort, sérum-albumine bovine (BSA)                                              |
| Substrat TMB                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 1 x 15 ml                 | Noir               | Incolore               | Tétraméthylbenzidine stabilisée et peroxyde d'hydrogène (TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )                                                            |
| Solution d'arrêt                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 1 x 15 ml                 | Blanc              | Incolore               | Acide chlorhydrique à 1 M                                                                                                                               |
| Microplaque                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 12 barrettes de 8 cupules | S.O.               | S.O.                   | Avec micro-puits sécables. Pour la sensibilisation de la plaque, voir paragraphe 1.                                                                     |
| * L'intensité de la coloration augmente avec la concentration                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                           |                    |                        |                                                                                                                                                         |
| MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                           |                    |                        |                                                                                                                                                         |
| Lecteur de microplaques avec filtre de lecture à 450 nm et filtre de référence recommandé à 620 nm (600-690 nm). Verrerie (bouteille de 100-1 000 ml), tubes à essai pour les dilutions. Agitateur Vortex, pipettes de précision (10, 100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipette réglable (100-1000 µl). Appareil de lavage pour microplaques (pipette à répétition ou multicanaux de 300 µl ou système automatique), papier absorbant. Nos tests sont conçus pour être utilisés avec de l'eau purifiée, conformément à la définition de la United States Pharmacopeia (USP 26 - NF 21) et de la Pharmacopée européenne (Eur.Ph. 4th ed.). |                           |                    |                        |                                                                                                                                                         |

### 4 Stockage et durée de conservation

Conserver tous les réactifs et la microplaque entre à 2-8 °C/35,6-46,4 °F, dans leurs emballages d'origine. Une fois préparées, les solutions reconstituées conservées à 2-8 °C/35,6-46,4 °F sont stables pendant au moins 1 mois. Ne pas utiliser les réactifs ni la microplaque au-delà de la date de péremption indiquée sur chaque composant. Éviter une exposition intense de la solution de TMB à la lumière. Conserver les microplaques dans leur pochette hermétiquement fermée, avec le dessiccant.



## 5 Précautions d'emploi

### 5.1 Données relatives aux risques pour la santé

**CE PRODUIT EST EXCLUSIVEMENT RÉSERVÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO.** Par conséquent, seul un personnel qualifié et spécialement formé dans le domaine des méthodes de diagnostic in vitro peut réaliser l'essai. Bien que ce produit ne soit pas considéré particulièrement toxique ou dangereux dans des conditions d'usage prévues, les recommandations et précautions suivantes doivent être observées pour une sécurité maximale:

#### **Recommandations et précautions**

Ce kit contient des composants potentiellement dangereux. Bien que les réactifs du kit ne soient pas classifiés comme des irritants pour les yeux et la peau, nous recommandons d'éviter le contact de ces réactifs avec les yeux et avec la peau et d'utiliser des gants jetables.

**ATTENTION!** Les calibrateurs, les contrôles et les tampons contiennent de l'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) comme conservateur.  $\text{NaN}_3$  peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption au contact avec la peau ou les yeux.  $\text{NaN}_3$  peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations en formant des azides métalliques hautement explosifs. Pour prévenir l'accumulation d'azide, rincer abondamment à l'eau lors du rejet. Référez-vous s'il vous plaît aux procédures de décontamination définies par le CDC ou d'autres directives locales/nationales.

**Ne pas fumer, manger ou boire durant la manipulation du kit. Ne pas pipeter à la bouche.**

Tout matériel d'origine humaine utilisé dans certains réactifs de ce kit (p. ex. contrôle, standards) a été analysé avec des méthodes homologuées et les résultats ont montré qu'il était négatif en ce qui concerne les virus HbsAg, Hépatite C et HIV 1. Toutefois, aucun test ne peut garantir l'absence complète d'agents viraux dans ce type de matériel. Par conséquent, il est nécessaire de manipuler les contrôles, standards et échantillons des patients comme s'il s'agissait de transmetteurs potentiels de maladies infectieuses et conformément aux conditions requises au niveau national.

Comme indiqué dans la table des matières, ce kit contient des substances d'origine animale ; les manipuler conformément aux exigences nationales.

### 5.2 Règles générales pour l'utilisation

Si les informations sur le produit, y compris l'étiquetage, sont défectueuses ou incorrectes, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

Ne pas mélanger ou substituer les contrôles, calibrateurs, conjugués ou microplaques de lots différents. Cela pourrait conduire à une variation des résultats.

Veiller à ce que tous les composants atteignent la température ambiante (20-32 °C/68-89,6 °F) avant de les utiliser. Bien les agiter et suivre le schéma d'incubation recommandé pour une réalisation optimale de l'essai.

**Incubation: nous recommandons de réaliser le test à 30 °C/86 °F pour les systèmes automatiques.**

Ne jamais exposer les composants à une température supérieure à 37 °C / 98,6 °F.

Toujours pipeter la solution de substrat avec des nouveaux embouts de pipette. Protéger ce réactif de la lumière. Ne jamais pipeter le conjugué avec des embouts de pipette utilisés au préalable pour d'autres réactifs.

**Un diagnostic clinique définitif ne doit pas être basé uniquement sur les résultats de l'essai réalisé, mais il doit être élaboré par le médecin après avoir évalué tous les résultats cliniques et des laboratoires. Il faut vérifier le diagnostic en utilisant différentes méthodes diagnostiques.**



## 6 Recueil d'échantillons, manipulation et stockage

Utiliser de préférence des échantillons de sérum qui ont été récemment prélevés. L'extraction de sang doit être conforme aux conditions requises au niveau national.

Ne pas utiliser d'échantillons ictériques, lipémiques, hémolysés ou contaminés par des bactéries. Les sérums avec des particules doivent être purifiés par centrifugation à basse vitesse (<1000 x g). Les échantillons de sang doivent être recueillis dans des tubes propres, secs et vides.

Après la séparation, les échantillons de sérum doivent être utilisés dans les 8 heures ; hermétiquement fermés, ils peuvent également être conservés 48 heures à une température de 2-8 °C/35,6-46,4 °F ou congelés à -20 °C/-4 °F pendant des périodes plus longues.

## 7 Procédure du Test

### 7.1 Préparations à effectuer avant la distribution

#### Diluer les réactifs concentrés :

Diluer le tampon échantillons concentré au 1:5ème avec de l'eau distillée (par ex. 20ml + 80ml).

Diluer le tampon de lavage concentré au 1:50ème avec de l'eau distillée (par ex. 20ml + 980ml).

Pour éviter toute erreur, il est recommandé de marquer les bouchons des différents étalons.

#### Echantillons:

Diluer les échantillons sériques au 1:101ème avec le tampon échantillons (1x), par ex. 1000 µl de tampon échantillons (1x) + 10 µl de sérum. Bien homogénéiser!

#### Lavage:

Préparer 20 ml de tampon de lavage dilué (1x) pour 8 cupules ou 200 ml pour 96 cupules par ex. 4 ml de concentré + 196 ml d'eau distillée

#### Lavage automatique:

Prendre en compte les volumes supplémentaires requis pour l'amorçage et les volumes morts de l'appareil.

#### Lavage manuel:

Éliminer le liquide des cupules en retournant la plaque. Tapoter fermement la plaque sur un papier absorbant, en orientant les cupules vers le bas. Distribuer 300 µl de tampon de lavage dilué dans chaque cupule et attendre 20 secondes. Réaliser toute la procédure trois fois.

#### Microplaques:

Calculer le nombre de cupules requises pour effectuer le test. Retirer les cupules non utilisées du cadre de la plaque et les replacer dans le sac en plastique fourni, avec le dessiccant ; fermer hermétiquement et conserver entre (2-8 °C/35,6-46,4 °F).



## 7.2 Schéma de pipetage

Il est recommandé de distribuer étalons, contrôles et échantillons de la façon suivante:

| Pour une interprétation QUANTITATIVE |       |       |     |      | Pour une interprétation QUALITATIVE |    |     |   |      |
|--------------------------------------|-------|-------|-----|------|-------------------------------------|----|-----|---|------|
|                                      | 1     | 2     | 3   | 4... |                                     | 1  | 2   | 3 | 4... |
| A                                    | Cal A | Cal E | P1  |      | A                                   | NC | P2  |   |      |
| B                                    | Cal A | Cal E | P1  |      | B                                   | NC | P2  |   |      |
| C                                    | Cal B | Cal F | P2  |      | C                                   | CC | P3  |   |      |
| D                                    | Cal B | Cal F | P2  |      | D                                   | CC | P3  |   |      |
| E                                    | Cal C | PC    | P3  |      | E                                   | PC | ... |   |      |
| F                                    | Cal C | PC    | P3  |      | F                                   | PC | ... |   |      |
| G                                    | Cal D | NC    | ... |      | G                                   | P1 | ... |   |      |
| H                                    | Cal D | NC    | ... |      | H                                   | P1 | ... |   |      |

CalA: calibrator A

CalB: calibrator B

CalC: calibrator C

CalD: calibrator D

CalE: calibrator E

CalF: calibrator F

PC: positive control

NC: negative control

CC: cut-off calibrator

P1: patient 1

P2: patient 2

P3: patient 3

## 7.3 Étapes de test

| Étape                            | Description                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.                               | Vérifier que les préparations de l'étape 7.1 ci-dessus ont été réalisées avant le pipetage.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 2.                               | Selon que l'utilisateur souhaite obtenir des résultats d'interprétation quantitatifs/qualitatifs, procéder comme suit :                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>CONTRÔLES ET ÉCHANTILLONS</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 3.                               | <p>Comme expliqué dans le chapitre 7.2 ci-dessus, dans les cupules indiquées, pipeter 100 µl de :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Étalons (CAL.A à CAL.F) pour l'interprétation <b>QUANTITATIVE</b> ou</li> <li>Cut-off Étalon (CC) pour l'interprétation <b>QUALITATIVE</b></li> </ol> <p>et 100 µl de chacun des composants suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Contrôle négatif (NC) et contrôle positif (PC) et</li> <li>Sérum de patients dilué (P1, P2...)</li> </ul> |
| 4.                               | <p>Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32 °C/68-89,6 °F.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 5.                               | <p>Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué au 1:50ème).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |



## CONJUGUÉ

6.



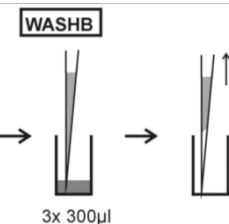
Distribuer 100 µl de conjugué dans chaque cupule.

7.



Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32 °C/68-89,6 °F.

8.



Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué au 1:50ème).

## SUBSTRAT

9.



Distribuer 100 µl de substrat TMB dans chaque cupule.

10.



Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32 °C/68-89,6 °F et à l'abri de la lumière.

## ARRÊT

11.



Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule, dans le même ordre que pour la distribution du substrat.

12.

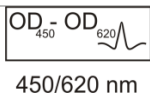


Incuber pendant au moins 5 minutes.

13.

Agiter la plaque avec précaution pendant 5 secondes.

14.



Lire l'absorbance à 450 nm (450/620 recommandée) dans les 30 minutes.



## 8 Interprétation quantitative et qualitative

Pour une **interprétation quantitative**, établir la courbe standard en traçant la **densité optique (DO) de chaque calibrateur (axe y)** par rapport aux valeurs de concentration correspondantes en U/ml (axe x). Pour obtenir de meilleurs résultats, nous recommandons des coordonnées log/lin et un ajustement de courbe par logistique pondérée à 4 paramètres (4PL). À partir de la DO de chaque échantillon, lire les concentrations d'anticorps correspondantes exprimées en U/ml.

| Valeurs Normales | Equivoque    | Résultats Positifs |
|------------------|--------------|--------------------|
| < 12 U/ml        | 12 - 18 U/ml | >18 U/ml           |

### Exemple de courbe d'étalonnage

**Ne pas utiliser cet exemple pour l'interprétation des résultats de patients !**

| Étalons IgG | DO 450/620 nm | CV % (Variation) |
|-------------|---------------|------------------|
| 0 U/ml      | 0,036         | 2,9              |
| 3 U/ml      | 0,176         | 2,3              |
| 10 U/ml     | 0,314         | 2,9              |
| 30 U/ml     | 0,618         | 2,9              |
| 100 U/ml    | 1,312         | 0,1              |
| 300 U/ml    | 2,076         | 0,7              |

### Exemple de calcul

| Patient | Réplifications (D.O.) | Moyenne (DO) | Résultat (U/ml) |
|---------|-----------------------|--------------|-----------------|
| P 01    | 0,799/0,744           | 0,772        | 40,3            |
| P 02    | 1,404/1,393           | 1,39         | 119,5           |

Les échantillons supérieurs à la plage maximale de l'étalon doivent être signalés par >Max. Ils doivent être dilués correctement, puis retestés. Les échantillons inférieurs à la plage de l'étalon doivent être signalés par <Min.

Pour les données spécifiques du lot, se référer à la fiche de contrôle ci-jointe. Les laboratoires peuvent effectuer un contrôle qualité interne à l'aide de leurs propres contrôles et/ou de pools sériques internes, conformément à la législation nationale.

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs normales sur la base de ses propres techniques, contrôles, matériel et population de patients, selon ses procédures habituelles.

Si les valeurs des contrôles ne remplissent pas les critères, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

Les problèmes techniques suivants doivent être vérifiés : Dates de péremption des réactifs (préparés), conditions de stockage, pipettes, dispositifs, photomètre, conditions d'incubation et méthodes de lavage.

Si les composants testés affichent des valeurs aberrantes ou un écart quelconque ou si les critères de validation ne sont pas satisfaits sans cause explicable, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

Pour l'**interprétation qualitative**, lire la densité optique du calibrateur cut-off et celle des échantillons de patients. Comparer la DO des patients à la DO du calibrateur cut-off. Pour l'interprétation qualitative, nous recommandons de considérer les sérums qui se situent dans un domaine de 20 % autour de la valeur du cut-off comme étant équivoques. Tous les échantillons, dont la DO est plus élevée que celle du cut-off, sont considérés positifs et les échantillons, dont la DO est moins élevée que celle du cut-off, sont considérés négatifs.

|            |                  |   |                               |
|------------|------------------|---|-------------------------------|
| Négatif:   | DO patient       | < | 0,8 x DO cut-off              |
| Equivoque: | 0,8 x DO cut-off | ≤ | DO patient ≤ 1,2 x DO cut-off |
| Positif:   | DO patient       | > | 1,2 x DO cut-off              |



## 9 Données techniques

|                              |                                                                  |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Type d'échantillon:          | sérum                                                            |
| Volume d'échantillon:        | 10µl d'échantillon dilué au 1:101ème en tampon échantillons (1x) |
| Temps d'incubation total:    | 90 minutes à température 20-32 °C/68-89,6 °F                     |
| Plage d'étalonnage:          | 0-300 U/ml                                                       |
| Sensibilité analytique:      | 1,0 U/ml                                                         |
| Conservation:                | entre 2-8 °C/35,6-46,4 °F, dans les flacons d'origine uniquement |
| Nombre de tests par coffret: | 96 tests                                                         |

## 10 Données relatives à la performance

### 10.1 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique de l'essai **AESKULISA® ANA-HEp-2 quantitative** de 1,0 U/ml a été déterminée en réalisant par 30 tests sur les tampons d'échantillon.

### 10.2 Spécificité et sensibilité

La microplaque est enduite de cellules HEp2 lysées. Aucune réactivité croisée avec d'autres autoantigènes n'a pu être observée. Les ANA ne sont pas spécifiques du LES, mais ils ont été trouvés dans une variété de maladies rhumatiques. La détection des ANA représente un marqueur très sensible pour un LES actif et est positive dans >99% de tous les cas.

### 10.3 Linéarité

Les sérums sélectionnés ont été testés avec ce kit et il s'est avéré qu'ils devraient se diluer linéairement. Cependant, en raison de la nature hétérogène des autoanticorps humains, il peut y avoir des échantillons qui ne suivent pas cette règle.

| Echantillon Numéro | Facteur de Dilution | Concentration obtenue (U/ml) | Concentration attendue (U/ml) | Corrélation (%) |
|--------------------|---------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| 1                  | 1 / 100             | 152,9                        | 153,6                         | 99,5            |
|                    | 1 / 200             | 76,4                         | 76,8                          | 99,4            |
|                    | 1 / 400             | 38,8                         | 38,4                          | 101,0           |
|                    | 1 / 800             | 17,8                         | 19,2                          | 92,7            |
| 2                  | 1 / 100             | 85,3                         | 84,9                          | 100,5           |
|                    | 1 / 200             | 44,1                         | 42,5                          | 103,8           |
|                    | 1 / 400             | 22,0                         | 21,2                          | 103,8           |
|                    | 1 / 800             | 9,8                          | 10,6                          | 92,5            |



## 10.4 Précision

Afin de déterminer la précision de l'essai, on a évalué la variabilité (intra-test et inter-test) à travers une analyse de reproductibilité sur trois échantillons de sérum sélectionnés pour représenter un rang au-dessus de la courbe standard.

| Intra- Essai          |                       |           |
|-----------------------|-----------------------|-----------|
| Echantillon<br>Numéro | Moyenne<br>(Ratio DO) | CV<br>(%) |
| 1                     | 4,6                   | 1,5       |
| 2                     | 2,8                   | 2,0       |
| 3                     | 1,4                   | 1,8       |

| Inter- Essai          |                       |           |
|-----------------------|-----------------------|-----------|
| Echantillon<br>Numéro | Moyenne<br>(Ratio DO) | CV<br>(%) |
| 1                     | 4,7                   | 3,1       |
| 2                     | 3,0                   | 2,5       |
| 3                     | 1,2                   | 2,4       |

## 10.5 Etalonnage

La calibration de l'essai **AESKULISA® ANA-HEp-2 quantitative** a été effectuée contre des sérums de référence du CDC (Centers for Disease Control and Prevention) d'Atlanta.

## 11 Bibliographie

**Peter JB, Shoenfeld Y (1996).** Autoantibodies. Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.

**Froelich CH, Wallmann H, Skosey JL and Teodorescu M (1990).** Clinical value of an integrated ELISA system for the detection of 6 autoantibodies. The Journal of Rheumatology 17 (2): 192-200.

**Mierau R, Genth E (1998).** Autoantikörper bei systemischem Lupus erythematodes und verwandten Erkrankungen In: Thomas L. (Hrsg.) Labor und Diagnose TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.

**Schmolke M, Oppermann M, Helmke K, Guder WG (2000).** Antibody determination against ENA- a challenge for the routine laboratory Poster P59, 5 th Dresden Symposium on Autoantibodies.

**Tan EM, (1989).** Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. Adv. Immunol 44: 93-151.



## 12 Symboles réglementaires

|                  |                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                        |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IVD</b>       | - Diagnosi in vitro<br>- Pour diagnostic in vitro<br>- In Vitro Diagnostikum<br>- Para uso Diagnóstico in vitro                                                                                             | - For in vitro diagnostic use<br>- Para uso diagnóstico in vitro<br>- In Vitro Διαγνωστικό μέσο                                        |
| <b>REF</b>       | - Numero d'ordine<br>- Référence Catalogue<br>- Bestellnummer<br>- Número de catálogo                                                                                                                       | - Catalogue number<br>- Numéro de catálogo<br>- Αριθμός παραγγελίας                                                                    |
| <b>LOT</b>       | - Descrizione lotto<br>- Lot<br>- Chargen Bezeichnung<br>- Lote                                                                                                                                             | - Lot<br>- Lote<br>- Χαρακτηρισμός παρτίδας                                                                                            |
| <b>UDI</b>       | - Identificatore univoco del dispositivo<br>- Identifiant unique de l'appareil<br>- eindeutige Produktidentifizierung<br>- Identificador único do dispositivo                                               | - Unique Device Identifier<br>- Identificador único del dispositivo<br>- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής                               |
| <b>CE</b>        | - Conformità europea<br>- Déclaration CE de Conformité<br>- Europäische Konformität<br>- Declaração CE de Conformidade                                                                                      | - EC Declaration of Conformity<br>- Declaración CE de Conformidad<br>- Ευρωπαϊκή συμφωνία                                              |
|                  | - 96 determinazioni<br>- 96 tests<br>- 96 Bestimmungen<br>- 96 Testes                                                                                                                                       | - 96 tests<br>- 96 pruebas<br>- 96 προσδιορισμοί                                                                                       |
|                  | - Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso<br>- Voir les instructions d'utilisation électronique<br>- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten<br>- Seguir as instruções electrónicas de utilização | - See electrical instructions for use<br>- Siga las instrucciones electrónicas de uso<br>- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
|                  | - Da utilizzarsi entro<br>- Utiliser avant le<br>- Verwendbar bis<br>- Utilizar antes de                                                                                                                    | - Use by<br>- Utilizar antes de<br>- Χρήση μέχρι                                                                                       |
|                  | - Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)                                                      | - Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)                          |
|                  | - Prodotto da<br>- Fabriqué par<br>- Hergestellt von<br>- Fabricado por                                                                                                                                     | - Manufactured by<br>- Fabricado por<br>- Κατασκευάζεται από                                                                           |
| <b>CO-CAL</b>    | - Calibratore cut-off<br>- Etalon Seuil<br>- Grenzwert Kalibrator<br>- Calibrador de cut-off                                                                                                                | - Cut off Calibrator<br>- Calibrador de cut-off<br>- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης                                           |
| <b>CON +</b>     | - Controllo positivo<br>- Contrôle Positif<br>- Positiv Kontrolle<br>- Controllo positivo                                                                                                                   | - Positive Control<br>- Control Positivo<br>- Θετικός ορός ελέγχου                                                                     |
| <b>CON -</b>     | - Controllo negativo<br>- Contrôle Négatif<br>- Negativ Kontrolle<br>- Controllo negativo                                                                                                                   | - Negative Control<br>- Control Negativo<br>- Αρνητικός ορός ελέγχου                                                                   |
| <b>CAL</b>       | - Calibratore<br>- Etalon<br>- Kalibrator<br>- Calibrador                                                                                                                                                   | - Calibrator<br>- Calibrador<br>- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης                                                                           |
| <b>CONJ</b>      | - Coniugato<br>- Conjugué<br>- Konjugat<br>- Conjugado                                                                                                                                                      | - Conjugate<br>- Conjugado<br>- Σύζευγμα                                                                                               |
| <b>MP</b>        | - Micropiastro rivestita<br>- Microplaque sensibilisée<br>- Beschichtete Mikrotiterplatte<br>- Microplaca revestida                                                                                         | - Coated microtiter plate<br>- Microplaca sensibilizada<br>- Επικαλυμμένη μικροπλάκα                                                   |
| <b>WASHB 50x</b> | - Tampone di lavaggio<br>- Tampon de Lavage<br>- Waschpuffer<br>- Solução de lavagem                                                                                                                        | - Wash buffer<br>- Solución de lavado<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης                                                                   |
| <b>SUB</b>       | - Tampone substrato<br>- Substrat<br>- Substratpuffer<br>- Substrato                                                                                                                                        | - Substrate buffer<br>- Tampón sustrato<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος                                                           |
| <b>STOP</b>      | - Reagente bloccante<br>- Solution d'Arrêt<br>- Stopreagenz<br>- Solução de paragem                                                                                                                         | - Stop solution<br>- Solución de parada<br>- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης                                                         |
| <b>SB 5x</b>     | - Tampone campione<br>- Tampon Echantillons<br>- Probenpuffer<br>- Diluente de amostra                                                                                                                      | - Sample buffer<br>- Tampón Muestras<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων                                                                 |