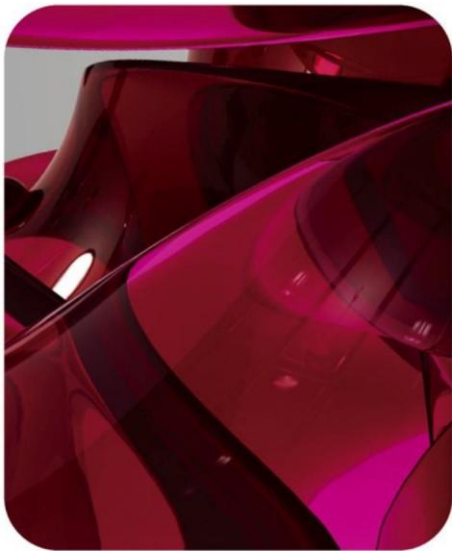
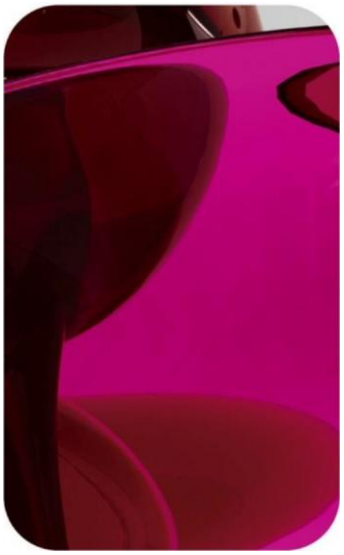
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS


# AESKUBLOTS®

*THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS*

# MANUALE DI ISTRUZIONI

***AESKUBLOTS® ANA-17 Pro***

***Ref 4001***

CE

# Manuale di istruzioni

## Indice

1 Destinazione d'uso ..... 1
2 Applicazione clinica e principio del test ..... 1
3 Contenuto del kit ..... 3
4 Conservazione e durata ..... 4
5 Precauzioni per l'uso e informazioni generali ..... 4
6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni ..... 6
7 Procedura del test ..... 6
8 Interpretazione qualitativa ..... 9
9 Dati tecnici ..... 11
10 Dati di prestazione ..... 12
11 Smaltimento del prodotto ..... 15
12 Bibliografia ..... 16
13 Simboli normativi ..... 17

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
Mail: info@aesku.com

# 1 Destinazione d'uso

***AESKUBLOTS*® ANA-17 Pro** è un test immunoenzimatico basato su membrana per la determinazione qualitativa di anticorpi IgG contro dsDNA, nucleosomi, istoni, Sm, PCNA, Rib-P0, SS-A/Ro60kD, SS-A/Ro52kD, SS-B/La, CENP-B, SCL-70, U1-snRNP, AMA M2, Jo-1, Pm-Scl, Mi-2 e Ku presenti nel siero umano. Gli antigeni vengono applicati in file parallele in posizioni definite con esattezza su una membrana di nitrocellulosa.

Il test è uno strumento per la diagnosi differenziale di malattie reumatiche sistemiche.

Il kit di test è destinato esclusivamente all'uso professionale nei laboratori.

# 2 Applicazione clinica e principio del test

Gli anticorpi antinucleari (ANA) sono uno strumento importante per la diagnosi differenziale delle malattie reumatiche sistemiche. La determinazione degli autoanticorpi nel Line Immunoassay (LIA) con gli antigeni specifici corrispondenti consente una differenziazione semplice e affidabile degli ANA in base alla loro specificità. Gli ANA si riscontrano soprattutto in forme attive e inattive di lupus eritematoso sistemico (LES), in malattie miste del tessuto connettivo (MCTD), nella sclerodermia, nella sindrome di Sjögren, nella cirrosi biliare primaria (PBC) e nella polimiosite. In base alla loro rilevanza per le singole malattie autoimmuni, 17 antigeni vengono fissati su una strip reattiva ***AESKUBLOTS*® ANA-17 Pro** (LES, sindrome di Sjögren, sindrome CREST, sclerodermia, MCTD, PBC e miosite).

**Anticorpi e loro bersaglio:**

- I nucleosomi sono diretti contro gli epitopi del complesso dell'istone (nucleosoma). Inoltre, gli anticorpi anti-dsDNA e anti-istone possono riconoscere gli epitopi del nucleosoma. Rispetto agli anticorpi anti-dsDNA, gli anticorpi anti-nucleosoma sono più sensibili e possono fornire un'utile indicazione per la diagnosi del LES (Chabre et al. 1995; Bruns et.al. 2000). Inoltre, hanno rilevanza patogenetica in presenza di nefrite lupica (Van Bruggen et al. 1996; Amoura et al. 1999).

- I dsDNA sono considerati specifici del LES e sono stati riscontrati all'incirca nel 50-80% dei pazienti.

- Gli istoni sono comuni nei pazienti affetti da LES. Tuttavia, si riscontrano anche in altre malattie del tessuto connettivo. Gli anticorpi contro gli istoni, in assenza di altri autoanticorpi (soprattutto anti-dsDNA), sono un marcatore caratteristico del lupus eritematoso indotto da sostanze d'abuso (Rubin 1999).

- L'Sm (antigene di Smith) e gli anticorpi contro il DNA a doppia elica (dsDNA) sono altamente specifici del LES e sono quindi inclusi nei suoi criteri diagnostici e di classificazione.

- Gli U1-snRNP sono patognomonici delle MCTD, ma si riscontrano anche nel LES. Un alto titolo di anticorpi contro questo antigene è caratteristico della sindrome di Sharp.

- Alti titoli di SS-A (Ro; ribonucleoproteine nucleari solubili e/o citoplasmatiche di 52 kDa e 60 kDa) e gli anticorpi contro SS-B (La; proteina di 48 kDa associata con RNA-polimerasi III) si riscontrano principalmente nella sindrome primaria e secondaria di Sjögren, ma anche nel LES, nel blocco cardiaco congenito e nel lupus neonatale.
- Gli Scl-70 sono diretti contro le DNA-topoisomerasi I. Sono altamente specifiche della sclerodermia sistemica e sono indicativi di un decorso grave della malattia.
- I CENP-B (proteina B centromerica di 80 kDa) sono caratteristici della sindrome CREST (69% dei pazienti CREST), che è una forma più avanzata di sclerosi sistemica.
- I Jo-1 sono diretti contro la istidil-tRNA-sintetasi (una proteina citoplasmatica che interviene nella biosintesi proteica) e sono presenti nel 20-40 % dei pazienti con polimiosite e dermatomiosite.
- Le proteine P ribosomiali sono dirette contro diverse fosfoproteine della subunità ribosomiale maggiore. Si riscontrano in pazienti con lupus eritematoso sistemico (Elkon et al. 1985) e in pazienti affetti da lupus con coinvolgimento cerebrale (Bonfa et al. 1987).
- Gli AMA M2 reagiscono con le proteine del complesso chetoacido-deidrogenasi dei mitocondri. Si riscontrano in alti titoli nel 95 % dei pazienti affetti da PBC. La loro identificazione è fondamentale per la diagnosi della PBC e per una differenziazione da altre malattie colestatiche del fegato.
- Generalmente i Ku reagiscono con la subunità p80 e con un epitopo conformazionale sull'eterodimero p70/p80 della proteina chinasi DNA-dipendente. Si legano anche con altre proteine aventi omologia di sequenze a p70/p80 (ad esempio NFIV, TREF, EBP-80, E1BF e Ku-2). Si riscontrano nel 5-25 % dei pazienti con sindrome overlap polimiosite/sclerodermia e nell'1-7% dei pazienti affetti da miosite. Sono presenti anche in pazienti con ipertensione polmonare primitiva (circa 20 %), con LES (5-10 %), con sindrome di Sjögren primaria (20 %) e occasionalmente con altre malattie del tessuto connettivo (Cooley et al. 1999).
- I Mi-2 si riscontrano nel 15-20 % dei pazienti affetti da dermatomiosite. Hanno un'elevata specificità diagnostica. Il 95% dei pazienti con anticorpi Mi-2 soffre di dermatomiosite. Tuttavia, si riscontrano raramente nei pazienti affetti da polimiosite, per cui sono importanti per la diagnosi differenziale (Roux et al. 1998; Targoff 2000). L'antigene Mi-2 è parte di un complesso multiproteico nucleare, che può intervenire nella regolazione del ciclo di proliferazione cellulare.
- I Pm-Scl si riscontrano nel 24 % dei pazienti con sindrome overlap polimiosite/sclerodermia e nel 3-10% dei pazienti con sclerodermia e polimiosite.
- I PCNA sono specifici del LES. L'antigene è una proteina con un peso molecolare di 36 kDa, ed è una proteina ausiliaria per la delta DNA polimerasi. È implicata nella sintesi del DNA e nei meccanismi di riparazione del DNA.

**Principio del test**

Gli antigeni vengono applicati in file parallele su una membrana di nitrocellulosa. La membrana è bloccata per evitare reazioni aspecifiche. Le strip di membrana con antigeni specifici in posizioni definite con esattezza vengono incubate in campioni di siero diluiti in un rapporto 1:101. Se presenti nel campione, gli anticorpi del paziente si legano all'antigene. La frazione non legata viene eliminata tramite lavaggio nel passaggio successivo. In seguito, le immunoglobuline anti-umane coniugate alla perossidasi di rafano (coniugato) vengono incubate e reagiscono con il complesso antigene-anticorpo dei campioni. Il coniugato non legato viene eliminato tramite lavaggio nel passaggio successivo. Dopo l'aggiunta del substrato TMB, una reazione enzimatica provoca la conversione in un precipitato di colore blu. La reazione viene arrestata con acqua distillata.

# 3 Contenuto del kit

| ***DA RICOSTITUIRE*** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Componente | Quantità | Colore del tappo | Colore della soluzione | Descrizione/Contenuto |
| Reagente bloccante | 3 x 10 ml di concentrato ciascuno | Bianco | N.A. | Latte scremato in polvere per la preparazione di 3 x 10 ml di tampone per campioni |
| Tampone di lavaggio (20x) | 1 x 50 ml | Bianco | Incolore | Concentrato 20x per la preparazione di 1 litro di tampone Tris, pH 6,9 ± 0,2 |
| ***PRONTI PER L'USO*** | | | | |
| Componente | Quantità | Colore del tappo | Colore della soluzione | Descrizione/Contenuto |
| Coniugato, IgG | 1 x 10 ml | Blu | Incolore | Immunoglobulina anti-umana G (IgG) coniugata con perossidasi di rafano |
| Tampone substrato | 1 x 10 ml | Nero | Incolore | TMB stabilizzata/$H_2O_2$ |
| Strip di membrana | 24 strip | Colore arancione | N.A. | Antigeni rivestiti, vedere uso previsto |
| Pinzette, modello di riferimento, tabella di valutazione, striscia adesiva (biadesiva, bianca) | 1 unità ciascuno | N.A. | N.A. | N.A. |
| Vaschetta d'incubazione | 3 unità | N.A. | N.A. | N.A. |
| Etichette per il tampone per campioni | 3 unità | N.A. | N.A. | N.A. |
| ***MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO*** | | | | |
| Piattaforma oscillante, cilindro da 1000 ml, pipetta o cilindro da 10 ml, pipette di precisione (10, 1000 µl), carta assorbente o filtrante. I nostri test sono stati studiati per essere eseguiti con acqua depurata, conformemente alle disposizioni della Farmacopea degli Stati Uniti (USP 26 - NF 21) e della Farmacopea Europea (Eur.Ph. 4ª ed.). | | | | |

# 4 Conservazione e durata

Conservare tutti i reagenti e le strip di membrana a una temperatura compresa tra 2-8 °C/35,6-46,4 °F nei contenitori originali. Dopo la preparazione, il tampone di lavaggio ricostituito e le strip aperte, il coniugato e il TMB sono stabili a 2-8 °C/35,6-46,4 °F per sei settimane. Il reagente bloccante ricostituito è stabile a 2-8 °C/35,6-46,4 °F per 3 settimane. Utilizzare i reagenti e le strip esclusivamente entro la data di scadenza indicata sul rispettivo componente. Non utilizzare i componenti dopo le date di scadenza. Evitare di esporre la soluzione TMB alla luce.

# 5 Precauzioni per l'uso e informazioni generali

## 5.1 Dati relativi ai rischi per la salute

Questo prodotto è indicato esclusivamente per l'uso DIAGNOSTICO IN VITRO. L'utilizzo di questo kit è consentito solo al personale addestrato, con ottima conoscenza dei metodi di diagnostica in vitro.

Tutti i componenti del kit sono classificati secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]. Per ulteriori informazioni sugli ingredienti, consultare la scheda di sicurezza (MSDS).

Le sostanze incluse nel cosiddetto "Elenco delle sostanze estremamente preoccupanti (SVHC) candidate all'autorizzazione" dell'Agenzia europea per le sostanze chimiche (ECHA) non sono componenti intenzionali di questo prodotto. Non è quindi previsto che queste sostanze siano contenute in quantità ≥ 0,1 % nel prodotto.

Conservare i reagenti in un luogo sicuro e inaccessibile ai bambini.

In particolare, la miscela non contiene sostanze classificabili come PBT o vPvB in concentrazioni ≥ 0,1 %.

I campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infettivi e manipolati secondo le normative nazionali. È necessario decontaminare i campioni dei pazienti e altri materiali potenzialmente infettivi dopo l'esecuzione del test.

## 5.2 Indicazioni generali per l'uso

Per distinguere i vari test ***AESKUBLOTS***® disponibili, è presente un colore di codifica sopra la linea di riferimento delle strip:

| Colore di codifica | ***AESKUBLOTS***® |
|---|---|
| Rosso | ANA-17 comp |
| Arancione | ANA-17 Pro |
| Marrone | Liver Pro |
| Viola | Vasculitis Pro |
| Nero | Gastro Pro |
| Verde | Borrelia-G e Borrelia-M |

Se le informazioni sul prodotto, etichette incluse, risultassero inesatte, contattare il produttore o il fornitore del kit.

Il reagente bloccante e il tampone di lavaggio sono intercambiabili tra lotti e kit dei test. Tutti gli altri componenti sono specifici per ciascun kit e non sono intercambiabili. Non scambiare i componenti dei reagenti tra i test diagnostici per le malattie autoimmuni e per Borrelia.

Non utilizzare recipienti in polistirene per manipolare coniugati.

Prima dell'uso, attendere che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F), miscelare bene e applicare il programma di incubazione consigliato per garantire prestazioni ottimali del test.

Non esporre i componenti a temperature superiori a 37 °C/98,6 °F.

Pipettare sempre la soluzione di substrato solo con puntali nuovi. Proteggere il reagente dalla luce. Non pipettare il coniugato con puntali utilizzati precedentemente con altri reagenti.

L'intensità di colore della banda non è necessariamente correlata ai titoli anticorpali ottenuti con altre metodologie di riferimento.

I campioni di donatori di sangue apparentemente normali possono contenere autoanticorpi.

Se il campione del paziente contiene livelli elevati di immunocomplessi o altri aggregati di immunoglobuline, non si possono escludere risultati falsi positivi dovuti a legami non specifici.

**Il medico non deve basare la diagnosi clinica definitiva solo sui risultati del test eseguito, ma deve stabilirla dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio. È necessario verificare la diagnosi con diversi metodi diagnostici.**

# 6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni

Utilizzare preferibilmente campioni di siero raccolti di recente. Il prelievo di sangue deve essere effettuato in conformità alle normative locali. Non utilizzare campioni itterici, lipemici, emolizzati o contaminati da batteri. I campioni di siero con particelle devono essere chiarificati mediante centrifugazione a bassa velocità (< 1000 x g). I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pulite, asciutte e vuote.

Dopo la separazione, i campioni di siero devono essere utilizzati entro 8 ore. In alternativa, possono essere conservati in flaconcini accuratamente sigillati fino a 48 ore, a una temperatura compresa tra 2-8 °C/35,6-46,4 °F o congelati a -20 °C/-4 °F per periodi più lunghi. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4) Non utilizzare campioni inattivati termicamente (56 °C/132,8 °F).

# 7 Procedura del test

## 7.1 Operazioni preliminari prima di iniziare

Verificare che non si siano formati cristalli salini nel concentrato. In caso contrario, sciogliere i cristalli riscaldando leggermente il concentrato; la temperatura ambiente dovrebbe essere sufficiente.

Diluire il tampone di lavaggio concentrato con acqua distillata in un rapporto 1:20 (ad es. 950 ml più 50 ml).

Per la preparazione del tampone per il campione: aggiungere 10 ml di tampone di lavaggio a un flacone di reagente bloccante e mescolare bene.

## 7.2 Procedura del test

**Note importanti:**

Attenersi esattamente al seguente protocollo. Assicurarsi che i due componenti menzionati nel protocollo vengano aggiunti nella vaschetta nei passaggi 2, 6, 9.

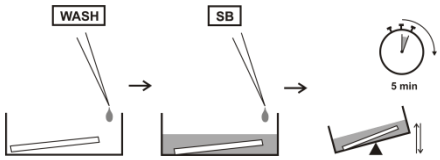
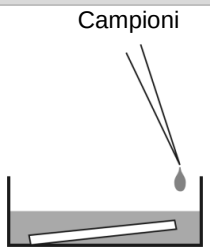
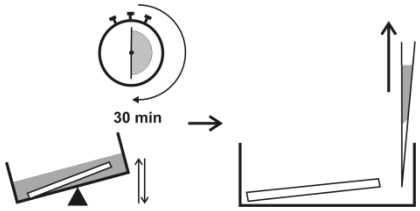
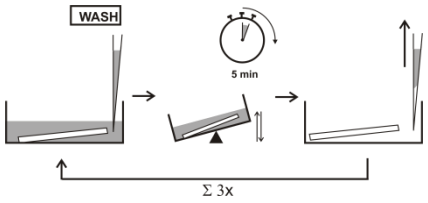
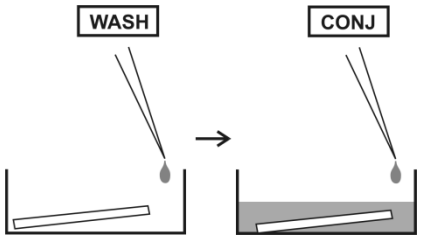
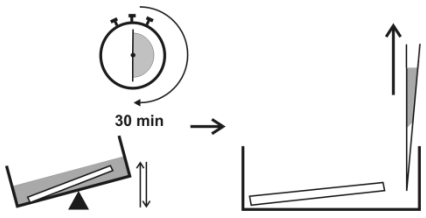
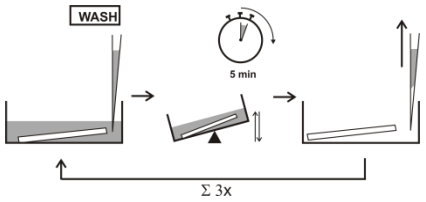
Evitare che la strip si secchi durante la procedura di incubazione.

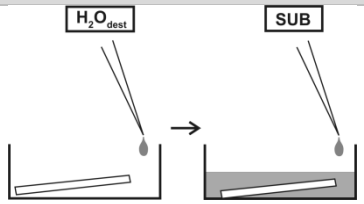
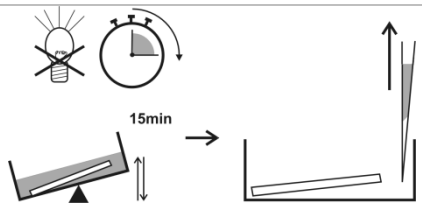
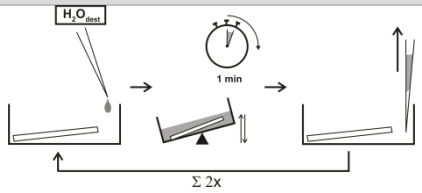
Non toccare la strip con le dita, utilizzare le pinzette.

Rimuovere completamente i campioni diluiti dopo l'incubazione della strip per evitare fenomeni di carry-over.

Agitare continuamente la strip durante la procedura di incubazione.

Dispensare tampone campione, coniugato e substrato insieme al tampone di lavaggio su un lato della vaschetta d'incubazione. Non farli scorrere sopra la strip.

| *Passaggio* | *Descrizione* |
|---|---|
| 1. | Prima di iniziare il test, controllare che le preparazioni del passaggio 7.1 siano state eseguite. |
| 2. |  Mettere la strip correttamente orientata nella vaschetta d'incubazione (linea di riferimento e codice colore verso l'alto). Dispensare 700 µl di tampone di lavaggio e 300 µl di tampone campione nella vaschetta d'incubazione. Inumidire la strip con la soluzione e incubare per 5 minuti agitando. |
| CONTROLLI E CAMPIONI | |
| 3. |  Pipettare 10 µl di campione di siero nelle vaschette d'incubazione designate con tampone campione. |
| 4. |  Incubare per 30 minuti a una temperatura compresa tra 20-32 °C/68-89,6 °F con agitazione. Al termine, rimuovere completamente il campione. |
| 5. |  Lavare 3 volte per 5 minuti con 1,5 ml di tampone di lavaggio mediante agitazione. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio. |
| CONIUGATO | |
| 6. |  Pipettare 700 µl di tampone di lavaggio e 300 µl di coniugato in ogni vaschetta d'incubazione con strip. |
| 7. |  Incubare per 30 minuti a una temperatura compresa tra 20-32 °C/68-89,6 °F con agitazione. Rimuovere il coniugato. |
| 8. |  Lavare 3 volte per 5 minuti con 1,5 ml di tampone di lavaggio mediante agitazione. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio. |

| | | |
|---|---|---|
| SUBSTRATO | | |
| 9. |  | Pipettare 700 µl di $dH_2O$ e 300 µl di substrato in ogni vaschetta d'incubazione con strip. |
| 10. |  | Incubare per 15 minuti a una temperatura compresa tra 20-32 °C/68-89,6 °F con agitazione, al riparo da sorgenti luminose intense. Rimuovere il substrato. |
| STOP | | |
| 11. |  | Pipettare 2 ml di $dH_2O$ in ogni vaschetta d'incubazione con strip. Incubare per 1 minuto con agitazione. Rimuovere l'$dH_2O$. Ripetere questo passaggio una volta. |
| 12. | Rimuovere la strip dalla vaschetta d'incubazione. Asciugare la strip con carta filtrante | |
| 13. | Analizzare i risultati entro 24 ore. | |

***AESKUBLOTS*® ANA-17 Pro** può anche essere processato e valutato automaticamente su ***HELIA*® Automated Blot System**.

Preparazione dei reagenti per ***HELIA*® Automated Blot System**: Diluire una parte di tampone di lavaggio concentrato (WASH) con 19 parti di acqua ultrapura (ad es. 50 ml di tampone di lavaggio concentrato e 950 ml di acqua ultrapura) per ottenere un tampone di lavaggio pronto per l'uso. Tutti gli altri reagenti sono già pronti per essere utilizzati sull'***HELIA*® Automated Blot System**. Per ulteriori dettagli sulla gestione dei test sull'***HELIA*® Automated Blot System**, consultare il manuale di istruzioni di ***HELIA*® Automated Blot System**.

# 8 Interpretazione qualitativa

Se i valori dei controlli non soddisfano i criteri, il test non è valido e deve essere ripetuto. Si consiglia di ripetere l'analisi dei campioni borderline.

È inoltre necessario verificare i seguenti aspetti tecnici: data di scadenza dei reagenti (preparati), condizioni di conservazione, pipette, attrezzature, condizioni di incubazione e metodi di lavaggio.

Se i campioni testati mostrano valori aberranti o deviazioni di qualsiasi tipo oppure si evidenzia che i criteri di convalida non vengono rispettati per ragioni non dipendenti dalla responsabilità dell'operatore, contattare il produttore o il fornitore del kit.

I laboratori medici possono eseguire un controllo qualità interno, servendosi dei propri controlli e/o pool di sieri interni, secondo quanto previsto dalla normativa nazionale.

## 8.1 Analisi manuale

I risultati dei test possono essere considerati validi se:

- È visibile un controllo funzionale
- È visibile un controllo cut-off
- Il colore del controllo cut-off è meno intenso del controllo funzionale

Incollare la strip asciutta sulla tabella di valutazione, allineandola alla linea di riferimento. Allineare il modello di riferimento alla linea di riferimento della strip. Interpretare i risultati facendo riferimento esclusivamente al controllo cut-off di ciascuna strip.

Ogni kit contiene una copia a colori di tutte le bande disponibili nel test.

L'analisi viene effettuata comparando l'intensità di colore delle bande con l'intensità di colore del controllo cut-off. Il test è dubbio se le intensità di colore non si discostano in modo significativo l'una dall'altra. Se il colore è più intenso il risultato del test è positivo, se l'intensità del colore è più debole il test è negativo.

I risultati possono essere registrati sulla tabella di valutazione.

## 8.2 Valutazione via software

Le strip vengono analizzate con il software AESKU.SCAN. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso di AESKU.SCAN.

I risultati dei test possono essere considerati validi se:

- È visibile un controllo funzionale
- È visibile un controllo cut-off
- Il colore del controllo cut-off è meno intenso del controllo funzionale

AESKU.SCAN 2.0:

Incollare la strip asciutta sulla tabella di valutazione (stampabile), allineandola alla linea di riferimento. Allineare il modello di riferimento alla linea di riferimento della strip.

Valutare le strip conformemente alle istruzioni per l'uso del software AESKU.SCAN 2.0.

L'analisi qualitativa dei risultati viene condotta mettendo a confronto le intensità di colore dei singoli antigeni con l'intensità di colore del controllo cut-off.

AESKU.SCAN 3.0:

Inserire le strip nella vaschetta d'incubazione nel lettore.

Valutare le strip conformemente alle istruzioni per l'uso del software AESKU.SCAN 3.0.

L'analisi qualitativa dei risultati viene condotta mettendo a confronto le intensità di colore dei singoli antigeni con l'intensità di colore del controllo cut-off.

*HELIA*® Automated Blot System:

Utilizzando ***HELIA*® Automated Blot System**, i risultati vengono analizzati automaticamente. I risultati possono essere determinati in valori di indice.

In base all'intensità del segnale si suggerisce la seguente interpretazione:

| Interpretazione dei risultati | Simbolo | Indice | Colore |
|---|---|---|---|
| Negativo | - | 0,0 - <0,8 | Incolore |
| Dubbio | +/- | ≥0,8 - <1,15 | Blu |
| Debolmente positivo | + | ≥1,15 - <2,5 | Giallo |
| Positivo | ++ | ≥2,5 - <4,0 | Rosso |
| Fortemente positivo | +++ | ≥ 4,0 | Rosso scuro |

# 9 Dati tecnici

| | |
|---|---|
| Materiale campione: | siero |
| Volume campione: | 10 µl |
| Tempo di incubazione totale: | 112 minuti a 20-32 °C (68-89,6 °F) |
| Conservazione: | a 2-8 °C (35,6-46,4 °F); utilizzare solo flaconcini originali |
| Numero di determinazioni: | 24 test |

# 10 Dati di prestazione

## 10.1 Studio del range di normalità

I valori attesi per ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 Pro** sono stati analizzati con un pannello di 120 sieri di donatori sani.

Tutti i test sono stati eseguiti in modo completamente automatizzato conformemente alle istruzioni per l'uso aggiornate.

| ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 Pro – Range di normalità - Report** | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Antigene** | **Numero di campioni** | **Campioni positivi** | | **Campioni dubbi** | | **Campioni negativi** | | **Min [Indice]** | **Max [Indice]** | **Media [Indice]** |
| | | **n** | **[%]** | **n** | **[%]** | **n** | **[%]** | | | |
| dsDNA | 120 | 0 | 0,00 | 4 | 3,33 | 116 | 96,67 | 0,00 | 1,10 | 0,25 |
| Nucleosomi | 120 | 0 | 0,00 | 3 | 2,50 | 117 | 97,50 | 0,00 | 0,90 | 0,21 |
| Istoni | 120 | 0 | 0,00 | 5 | 4,17 | 115 | 95,83 | 0,10 | 0,90 | 0,29 |
| Sm | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,60 | 0,11 |
| PCNA | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,70 | 0,08 |
| Rib-P0 | 120 | 1 | 0,83 | 1 | 0,83 | 118 | 98,33 | 0,00 | 1,40 | 0,12 |
| SS-A/Ro60 | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,50 | 0,13 |
| SS-A/Ro52 | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,50 | 0,08 |
| SS-B/La | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,30 | 0,08 |
| CENP-B | 120 | 0 | 0,00 | 1 | 0,83 | 119 | 99,17 | 0,00 | 1,10 | 0,06 |
| Scl 70 | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,70 | 0,07 |
| U1-snRNP | 120 | 0 | 0,00 | 1 | 0,83 | 119 | 99,17 | 0,00 | 0,90 | 0,08 |
| AMA-M2 | 120 | 0 | 0,00 | 1 | 0,83 | 119 | 99,17 | 0,00 | 0,80 | 0,14 |
| Jo-1 | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,40 | 0,05 |
| PM-Scl | 120 | 1 | 0,83 | 0 | 0,00 | 119 | 99,17 | 0,00 | 1,30 | 0,10 |
| Mi-2 | 120 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 120 | 100,00 | 0,00 | 0,60 | 0,11 |
| Ku | 120 | 1 | 0,83 | 1 | 0,83 | 118 | 98,33 | 0,00 | 1,20 | 0,11 |

***AESKUBLOTS***® **ANA-17 Pro** ha prodotto alcuni risultati dubbi e alcuni positivi. Prevalentemente, i risultati dubbi e positivi hanno mostrato gli antigeni dsDNA, nucleosomi e istoni. Il valore di indice più basso misurato è stato 0,0, quello più alto 1,4 (Rib-P0).

Raccomandiamo che ogni laboratorio definisca il proprio range di normalità.

## 10.2 Precisione

### Precisione intra-saggio

Per determinare le varianze intra-laboratorio/intra-saggio, cinque diversi sieri (S1-S5) sono stati analizzati per 20 volte su ***AESKUBLOTS*® ANA-17 Pro**. La concordanza positiva e negativa è stata calcolata da questi valori del test (n=20).

| Calcolo delle concordanze | |
|---|---|
| Percentuale di concordanza positiva [%] | 98,6 |
| Percentuale di concordanza negativa [%] | 100,0 |
| Percentuale di concordanza complessiva [%] | 99,6 |

### Precisione inter-saggio

Per determinare le varianze inter-saggio/giorno per giorno, sono stati analizzati cinque diversi sieri (S1-S5) per l'intero range, 8 volte per ciclo, per un totale di 5 cicli in 5 giorni diversi (n=40). Per il giorno 1 sono stati utilizzati i risultati delle varianze intra-laboratorio/intra-saggio (n=20). La concordanza positiva e negativa è stata calcolata da questi valori del test.

| Calcolo delle concordanze | |
|---|---|
| Percentuale di concordanza positiva [%] | 99,8 |
| Percentuale di concordanza negativa [%] | 100,0 |
| Percentuale di concordanza complessiva [%] | 99,9 |

### Precisione fra lotti

Per determinare la precisione fra lotti, cinque diversi sieri (S1-S5) sono stati testati sull'intero range 8 volte su 3 lotti (n=24). Il lotto 1 proveniva dal ciclo 1 dei dati inter-saggio. La concordanza positiva e negativa è stata calcolata tra i valori dei test dei tre diversi lotti.

| Calcolo delle concordanze | |
|---|---|
| Percentuale di concordanza positiva [%] | 99,1 |
| Percentuale di concordanza negativa [%] | 100,0 |
| Percentuale di concordanza complessiva [%] | 99,8 |

## 10.3 Sensibilità e specificità relativa

Per la determinazione della concordanza positiva (sensibilità relativa*), 115 sieri di pazienti positivi agli anticorpi IIF sono stati analizzati in ***AESKUBLOTS®* ANA-17 Pro**. Per la determinazione della concordanza negativa (specificità relativa*), sono stati analizzati 50 sieri di donatori di sangue.

| | |
|---|---|
| **Concordanza positiva** | 99,1 % (114/115) |
| **Concordanza negativa** | 98,0 % (49/50) |
| **Concordanza totale** | 98,8 % (163/165) |

### 10.4 Studio comparativo interno con i prodotti della concorrenza, sensibilità e specificità diagnostica

In uno studio clinico diversi campioni di siero di pazienti con LES, sclerosi sistemica, miosite, sindrome di Sjogren, PBC, MCTD e controlli sani sono stati analizzati con ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 Pro.** Gli stessi campioni sono anche stati misurati con un Westernblot concorrente o tramite confronto con ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 comp**. Tutti i test sono stati eseguiti conformemente alle istruzioni per l'uso aggiornate. Successivamente, i risultati sono stati confrontati per determinare la sensibilità e la specificità diagnostica del test.

| Antigene | Sensibilità | Specificità controlli sani | Specificità non-SLE |
|---|---|---|---|
| **dsDNA** | 75,0 % | 97,6 % | 100,0 % |
| **Nucleosomi** | 100,0 % | 97,6 % | 97,6 % |
| **Istone** | n.d.* | 96,2 % | 100,0 % |
| **SmD1** | n.d.* | 100,0 % | 100,0 % |
| **PCNA** | n.d.* | 100,0 % | 100,0 % |
| **Rib-P0** | 100,0 % | 100,0 % | 100,0 % |
| **SS-A/Ro60 kD** | 100,0 % | 100,0 % | 96,4 % |
| **SS-A/Ro52 kD** | 100,0 % | 100,0 % | n.d.* |
| **SS-B/La** | n.d.* | 100,0 % | 100,0 % |
| **CENP-B** | 100,0 % | 100,0 % | 95,6 % |
| **Scl-70** | n.d.* | 100,0 % | 100,0 % |
| **U1-sn RNP** | n.d.* | 100,0 % | 100,0 % |
| **AMA-M2** | 100,0 % | 100,0 % | 100,0 % |
| **Jo-1** | n.d.* | 100,0 % | 100,0 % |
| **PM-Scl** | n.d.* | 100,0 % | 96,7 % |
| **Mi-2** | n.d.* | 100,0 % | n.d.* |
| **Ku** | n.d.* | 97,6 % | n.d.* |

*non determinato

La sensibilità e la specificità di ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 Pro** mostrano risultati molto buoni. In alcuni casi, non è stato possibile calcolare la sensibilità per singoli parametri perché nel pannello misurato non erano presenti campioni positivi. Per questi casi sarà necessario analizzare altri campioni in futuro.

## 11 Smaltimento del prodotto

Si prega di osservare i requisiti di legge pertinenti!

# 12 Bibliografia

**Amoura Z, Piette J-C, Bach J-F, Koutouzov S (1995).** The key role of nucleosomes in lupus. Arthritis & Rheumatism. 42 (5):833–843.

**Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S (1987).** Association between Lupus Psychosis and Antiribosomal P Protein Antibodies. The New England Journal of Medicine. 317(5):265-271.

**Bruns A, Bläss S, Hausdorf G, Burmester GR, Hiepe F (2000).** Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. Arthritis & Rheumatism. 43 (10):2307–2315.

**Chabre H, Amoura Z, Piette J-C, Godeau P, Bach J-F, Koutouzov S (1995).** Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis & Rheumatism. 38 (10):1485–1491.

**Cooley HM, Melny BJ, GleesonR, Greco T, Kay TW (1999).** Clinical and serological associations of anti-Ku antibody. J Rheumatol. 26:563–567.

**Elkon KB, AP, Foster CL (1985).** Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins. J Exp Med. 162(2):459–71

**Roux S, Seelig HP, Meyer O (1998).** Significance of MI-2autoantibodies in polymyositis and dermatomyositis. J Rheumatol. 25: 395–396.

**Rubin RL (1999).** Etiology and mechanismof drug-induced lupus. Curr opin Rheumatol. 11:357–365.

**Targoff IN (2000).** Update on myositis-specific and myositis-associated autoantibodies. Current Opinion in Rheumatology. 12(6):475–481.

**Van Bruggen MC, Kramers C, Berden JH (1996).** Autoimmunity against nucleosomes and lupus nephritis. Ann Med Interne. 147(7):485–9.

**Letteratura generale:**

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

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

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

**Zeidler H, Michel BA (2009).** Differenzialdiagnose rheumatischer Erkrankungen. Springer, Heidelberg.

# 13 Simboli normativi

| | | |
|---|---|---|
| IVD | ¨ Diagnosi in vitro | ¨ For in vitro diagnostic use |
| | ¨ Pour diagnostic in vitro | ¨ Para uso diagnóstico in vitro |
| | ¨ In Vitro Diagnostikum | ¨ In Vitro Διαγνωστικό μέσο |
| | ¨ Para uso Diagnóstico in vitro | |
| REF | ¨ Numero d'ordine | ¨ Cataloge number |
| | ¨ Référence Catalogue | ¨ Numéro de catálogo |
| | ¨ Bestellnummer | ¨ Αριθμός παραγγελίας |
| | ¨ Número de catálogo | |
| LOT | ¨ Descrizione lotto | ¨ Lot |
| | ¨ Lot | ¨ Lote |
| | ¨ Chargen Bezeichnung | ¨ Χαρακτηρισμός παρτίδας |
| | ¨ Lote | |
| UDI | ¨ Identificatore univoco del dispositivo | ¨ Unique Device Identifier |
| | ¨ Identifiant unique de l'appareil | ¨ Identificador único del dispositivo |
| | ¨ eindeutige Produktidentifizierung | ¨ Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής |
| | ¨ Identificador único do dispositivo | |
| CE | ¨ Conformità europea | ¨ EC Declaration of Conformity |
| | ¨ Déclaration CE de Conformité | ¨ Declaración CE de Conformidad |
| | ¨ Europäische Konformität | ¨ Ευρωπαϊκή συμφωνία |
| | ¨ Déclaracão CE de Conformidade | |
| Σ 24 | ¨ 24 determinazioni | ¨ 24 tests |
| | ¨ 24 tests | ¨ 24 pruebas |
| | ¨ 24 Bestimmungen | ¨ 24 προσδιορισμοί |
| | ¨ 24 Testes | |
| eIFU WWW.AESKU.COM | ¨ Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso | ¨ See electronical instructions for use |
| | ¨ Voir les instructions d'utilisation électronique | ¨ Siga las instrucciones electrónicas de uso |
| | ¨ Elektronische Gebrauchsanweisung beachten | ¨ Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
| | ¨ Seguir as instruções electrónicas de utilização | |
| | ¨ Da utilizzarsi entro | ¨ Use by |
| | ¨ Utilise avant le | ¨ Utilizar antes de |
| | ¨ Verwendbar bis | ¨ Χρήση μέχρι |
| | ¨ Utilizar antes de | |
| +2°C +8°C | ¨ Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F) | ¨ Store at 2-8°C (35.6-46.4°F) |
| | ¨ Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F) | ¨ Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F) |
| | ¨ Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F) | ¨ Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F) |
| | ¨ Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F) | |
| | ¨ Prodotto da | ¨ Manufactured by |
| | ¨ Fabriqué par | ¨ Fabricado por |
| | ¨ Hergestellt von | ¨ Κατασκευάζεται από |
| | ¨ Fabricado por | |
| STRIP | ¨ Strip di nitrocelluslosa rivestita | ¨ Coated nitrocellulose strip |
| | ¨ Strip de nitrocellulose couché | ¨ Tira de nitrocelulosa recubierta |
| | ¨ Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebrachten Antigenen | ¨ Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης |
| | ¨ Tira de nitrocelulose revestido | |
| WASH 20x | ¨ Tampone di lavaggio | ¨ Wash buffer |
| | ¨ Tampon de Lavage | ¨ Solución de lavado |
| | ¨ Waschpuffer | ¨ Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης |
| | ¨ Solucão de lavagem | |
| BLOCK-REAG | ¨ Reagente bloccante | ¨ Blocking Reagent |
| | ¨ réactif de blocage | ¨ Reactivo bloqueante |
| | ¨ Blockier-Reagenz | ¨ Αντιδραστήριο αποκλεισμού |
| | ¨ Bloqueio de reagente | |
| RCNS 10ml | ¨ Ricostituire con 10 mL | ¨ Reconstitute with 10 mL |
| | ¨ reconstituer avec 10 mL | ¨ reconstituir con 10 mL |
| | ¨ rekonstituiren mit 10 mL | ¨ Ανασύσταση με 10 mL |
| | ¨ reconstituir com 10 mL | |
| SB | ¨ Tampone campione | ¨ Sample buffer |
| | ¨ Tampon Echantillons | ¨ Tampón Muestras |
| | ¨ Probenpuffer | ¨ Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων |
| | ¨ Diluente de amostra | |
| CONJ | ¨ Coniugato | ¨ Conjugate |
| | ¨ Conjugé | ¨ Conjugado |
| | ¨ Konjugat | ¨ Σύζευγμα |
| | ¨ Conjugado | |
| SUB | ¨ Tampone substrato | ¨ Substrate buffer |
| | ¨ Substrat | ¨ Tampón sustrato |
| | ¨ Substratpuffer | ¨ Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος |
| | ¨ Substrato | |