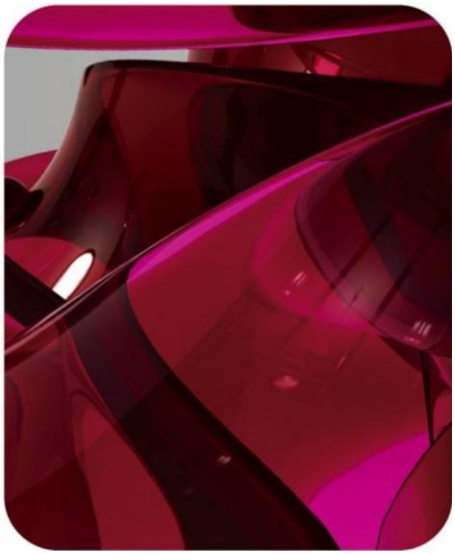
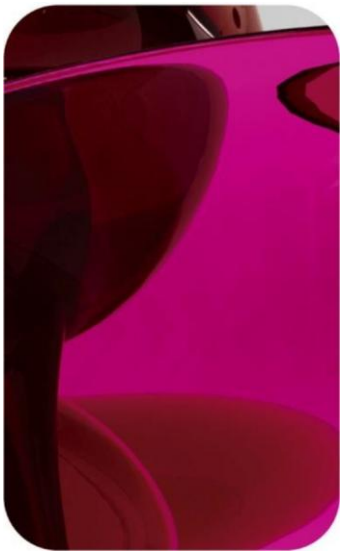
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS


AESKUBLOTS®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MODE D'EMPLOI

AESKUBLOTS® ANA-17 comp

Ref 4008

CE

Mode d'emploi

Sommaire

1 Usage prévu 1
2 Application clinique et principe du test 1
3 Composants du kit 3
4 Stockage et durée de conservation 4
5 Indications et mesures de précaution 4
6 Prélèvement des échantillons, préparation et stockage 5
7 Mode opératoire 6
8 Analyse qualitative 9
9 Technical Data 10
10 Caractéristiques 11
11 Éliminatio 14
12 Bibliographie 14
13 Symboles réglementaires 15

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 Usage prévu

***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp** est un test immunoenzymatique fixé sur membrane pour la détection qualitative d'anticorps de sous-classe IgG contre U1-snRNP, complexe snRNP/Sm, Sm, PCNA, dsDNA, Rib-P0, nucléosomes, histones, SS-A/Ro60kD, SS-A/Ro52kD, SS-B/La, CENP-B, Scl-70, Jo-1, Pm-Scl, Mi-2 et Ku dans le sérum humain. Les antigènes sont déposés sur les membranes de nitrocellulose à des endroits définis de manière à former des lignes.
Le test permet d'établir le diagnostic différentiel des maladies rhumatismales systémiques.
Le kit de test est uniquement destiné à un usage professionnel dans les laboratoires cliniques.

2 Application clinique et principe du test

La détection sérologique d'anticorps antinucléaires (ANA) joue un rôle déterminant pour le diagnostic différentiel des maladies systémiques rhumatismales. La détection des auto-anticorps avec le dosage LIA (Line Immuno Assay) comportant des antigènes spécifiques correspondants permet de différencier de façon facile et fiable les ANA en fonction de leur spécificité. Les ANA apparaissent en cas de lupus érythémateux disséminé (LED) actif et inactif, en cas de connectivite mixte (MCTD), de sclérodermie, de syndrome de Sjögren, en cas de cirrhose biliaire primitive (CBP) et de polymyosite. Dans ***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp**, 17 antigènes sont appliqués sur les bandelettes en fonction de chaque maladie auto-immune correspondante (LED, syndrome de Sjögren, syndrome de CREST, sclérodermie, MCTD, CBP et myosite).

Anticorps dirigés contre :

- le snRNP U1, typiques des connectivités mixtes, mais qui apparaissent également chez les patients atteints de LED. Un titre élevé d'anticorps anti-snRNP U1 est caractéristique du syndrome de Sharp.
- L'antigène snRNP/SM se compose de l'antigène Smith (Sm) et de la ribonucléoprotéine U1-spécifique de 70 kDa (RNP) , ainsi que des protéines A et C, et sert au diagnostic de collagénoses mixtes (MCTD) et du lupus érythémateux disséminé (LED).
- Sm (antigène de Smith) ainsi que les anticorps dirigés contre l'ADN double brin (ADNdb) sont hautement spécifiques du LED et sont donc inclus dans les critères de diagnostic et de classification du LED.
- Les PCNA sont spécifiques du LED. L'antigène est une protéine avec un poids moléculaire de 36 kDa, qui constitue une protéine auxiliaire de l'ADN-polymérase δ. Il favorise la synthèse de l'ADN et les mécanismes de sa réparation.
- les ADNdb, qui font figure de marqueurs spécifiques du LED et sont mis en évidence chez presque 50-80 % des patients.
- les protéines P ribosomales, qui ont pour cible plusieurs phosphoprotéines de la grande sous-unité ribosomique. Ils apparaissent en cas de lupus érythémateux disséminé (Elkon et al, 1985) et de lupus avec atteinte cérébrale (Bonfa et al., 1987).
- les nucléosomes, qui se lient aux épitopes du complexe histone (nucléosome). Les anticorps anti-ADNdb et anti-histone peuvent aussi reconnaître les antigènes du nucléosome. Les anticorps anti-nucléosome présentent, par rapport aux anticorps anti-ADNdb, une sensibilité accrue et peuvent ainsi constituer un complément précieux dans le diagnostic du LED (Chabre et al., 1995 ; Bruns et al., 2000). Ils représentent

en outre un intérêt pour la néphropathie lupique (Van Bruggen et al., 1996 ; Amoura et al., 1999).

- les histones, qui apparaissent souvent chez les patients atteints de LED, mais sont aussi présentes chez ceux souffrant d'autres collagénopathies. Dans le cas des lupus érythémateux induits par les médicaments, les anticorps anti-histone constituent, en l'absence d'autres autoanticorps, un marqueur spécifique (avant tout les anti-ADNdb) (Rubin 1999).
- les SSA (Ro ; ribonucléoprotéine cytoplasmique soluble et/ou nucléaire de 52 et 60 kDa) et les anticorps dirigés contre les SSB (La ; protéine de 48 kDa associée aux ARN polymérases III), qui sont la plupart du temps observés à des titres élevés dans le cas du syndrome de Sjögren primaire et secondaire, mais qui apparaissent aussi chez les patients souffrant de LED, de bloc cardiaque congénital et de lupus néonatal.
- les CENP-B (protéine centromérique B 80 kDa), typiques du syndrome de CREST (chez 60 % des patients atteints de ce syndrome), forme évolutive bénigne de la sclérodermie systémique.
- les Scl-70, qui ont pour cible les ADN topoisomérases I. Ils sont extrêmement spécifiques de la sclérodermie systémique et indiquent une évolution grave de la maladie.
- l'antigène Jo-1, qui ont pour cible l'histidyl-ARNt-synthétase (une protéine cytoplasmique issue de la biosynthèse des protéines). Ils sont observés chez 20-40 % des patients atteints de polymyosite et de dermatomyosite.
- On trouve l’antigène Pm-Scl chez 24 % des patients présentant un syndrome de chevauchement et chez 3-10 % des patients présentant une sclérodermie et une polymyosite.
- On trouve l’antigène Mi-2 chez 15-20 % des patients souffrant de dermatomyosite. Ils ont une grande spécificité diagnostique. 95 % des patients présentant des anticorps Mi-2 souffrent de dermatomyosite. En revanche, ils sont plutôt rares en cas de polymyosite, de sorte qu’ils sont importants pour le diagnostic différentiel (Roux et al. 1998, Targoff 2000). L’antigène Mi-2 fait partie d’un complexe multiprotéique nucléaire, qui contribue probablement à la régulation du cycle de prolifération cellulaire.
- Les Ku réagissent principalement avec la sous-unité p80 ou un épitope conformationnel sur l’hétérodimère p70/p80 de la protéine kinase dépendante de l’ADN. En outre, ils se lient à des protéines avec des séquences homologues à p70/p80 (ex. NFIV, TREF, EBP-80, E1BF et Ku-2). 5 à 25 % des patients souffrant de polymyosite ou de sclérodermie avec syndrome de chevauchement et 1 à 7 % des patients souffrant de myosites présentent des anticorps Ku. On les trouve, en outre, chez environ 20 % des patients souffrant d’hypertension pulmonaire primaire, chez 5-10 % des patients souffrant de LED, chez 20 % des patients souffrant d’un syndrome de Sjögren primaire, et occasionnellement dans d’autres cas de collagénoses (Cooley et al. 1999).

Principe du test

Les antigènes sont appliqués en lignes sur les bandelettes comportant une membrane de nitrocellulose. La membrane est bloquée pour empêcher toute liaison non spécifique. Les bandes à membrane porteuses des antigènes spécifiques sont laissées à incuber dans des boîtes d'incubation avec des échantillons de sérum / plasma dilués à 1:101. Les anticorps spécifiques issus du sérum / plasma du patient (le cas échéant) se lient à l'antigène sur la membrane. Les composants du sérum / plasma non liés sont lavés et emportés à l'étape de lavage suivante. Ensuite, on ajoute des anticorps contre les immunoglobulines humaines marqués à la peroxydase de raifort (conjugué). Pendant l'incubation, ils se lient au complexe antigène-anticorps précédemment formé, tandis que les immunoglobulines non liées sont évacuées lors de l'étape suivante de lavage. Les anticorps liés sont révélés à l'aide d'une réaction enzymatique colorimétrique (bleue), où le substrat incolore précipite. La réaction est stoppée à l'eau distillée.

3 Composants du kit

Reconstituer avant utilisation				
Composant du kit	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Réactif de blocage	3 x pour 10 ml de concentré	blanc	s.o.	Lait écrémé en poudre pour la préparation de 10 ml de tampon d'échantillon
Tampon de lavage 20x	1 x 50 ml	blanc	incolore	concentré 20 fois pour 1 L de tampon Tris, pH 6,9 ± 0,2
Prêt à l'emploi				
Composant du kit	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Conjugué IgG	1 x 10 ml	bleu	incolore	Anti-immunoglobuline humaine G (IgG) marqué à la peroxydase du raifort
Substrat	1 x 10 ml	noir	incolore	TMB/ H_2O_2 stabilisé
Bandelettes de test	24 bandelettes	Code couleur rouge	s.o.	Antigènes déposés : voir Usage prévu
Pincette, modèle d'interprétation transparent, feuille d'évaluation, étiquette adhésive double face (blanc) pour la fixation des bandelettes	1 de chaque	s.o.	s.o.	s.o.
boîte d'incubation	3	s.o.	s.o.	s.o.
Etiquettes pour tampon d'échantillon	3	s.o.	s.o.	s.o.
Matériel requis non fourni avec le kit :				
Agitateur-balance, éprouvette graduée de 1 000 ml, pipette ou éprouvette graduée pour volumes de 10 ml, micropipettes (10, 1 000 µl), papier absorbant ou papier filtre. Nos tests ont été développés pour une utilisation avec de l'eau purifiée (purified water) conforme à la définition de la Pharmacopée des Etats-Unis (USP 26 - NF 21) et de la Pharmacopée européenne (Eur. Ph. 4te Ed.).				

4 Stockage et durée de conservation

Conserver les réactifs et les bandelettes test à une température située entre 2 et 8 °C (entre 35,6 et 46,4 °F) dans leur emballage d'origine. Une fois préparés, le tampon de lavage reconstitué ainsi que les bandelettes ouvertes, le conjugué et la TMB sont stables pendant six semaines à une température située entre 2 et 8 °C (entre 35,6 et 46,4 °F). Le réactif bloquant reconstitué est stable pendant 3 semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C (35,6 et 46,4 °F). Les réactifs et les bandelettes doivent impérativement être utilisés avant la date de péremption indiquée sur chaque composant. Ne pas utiliser les composants après la date de péremption. Éviter toute exposition intense de la solution de TMB à la lumière.

5 Indications et mesures de précaution

5.1 Données relatives aux risques pour la santé

Ce produit est réservé à un ***USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO***. L'utilisation de ce kit est donc réservée à un personnel averti et spécialement formé aux méthodes de diagnostic in vitro.

Tous les composants du kit sont classés conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 [CLP]. Voir le document sur les matériaux et la sécurité (MSDS) pour plus d'informations sur les ingrédients.

Les substances répertoriées dans la Liste des substances extrêmement préoccupantes identifiées candidates en vue d'une autorisation (SVHC) de l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) ne sont pas des composants intentionnels de ce produit. Par conséquent, ces substances ne doivent pas être contenues dans ce produit dans des proportions ≥ 0,1 %.

Les réactifs doivent être conservés en lieu sûr et tenus hors de portée des enfants.

Plus particulièrement, ce mélange ne contient aucune substance à des concentrations ≥ 0,1 % classée dans la catégorie PBT ou vPvB.

Les échantillons des patients doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés conformément aux lois nationales. Les échantillons des patients et les autres matières potentiellement infectieuses doivent être décontaminés à l'issue du test.

5.2 Indications générales

Afin de différencier les tests ***AESKUBLOTS***® disponibles, un code couleur se situe au-dessus de la ligne de contrôle de la bandelette:

Code couleur	***AESKUBLOTS***®
rouge	ANA-17 comp
orange	ANA-17 Pro
marron	Liver Pro
violet	Vasculitis Pro
noir	Gastro Pro
vert	Borrelia-G et Borrelia-M

Si des informations produit sont incorrectes, y compris celles des étiquettes, merci de contacter le fabricant ou le fournisseur du kit.

Le réactif de blocage et le tampon de lavage peuvent être échangés entre les lots et les emballages des tests. Tous les autres composants sont spécifiques et ne doivent pas être échangés. Ne pas échanger les composants entre le test de diagnostic pour l'auto-immunité et celui pour la borréliose.

Aucun récipient en polystyrène ne doit être utilisé pour la manipulation du conjugué.

Tous les composants du kit doivent être à température ambiante (20-32°C/68-89,6°F) et bien mélangés. Le protocole prescrit pour le mode opératoire doit être impérativement observé afin d'obtenir des résultats optimaux.

N'exposez jamais séparément les composants du kit à des températures supérieures à 37°C/ 98,6°F.

Toujours pipeter la solution du substrat avec des pointes de pipettes neuves afin d'éviter toute contamination. Protéger la solution du substrat de la lumière. Ne jamais pipeter la solution du conjugué avec des pointes de pipettes contaminées par d'autres réactifs.

L'intensité chromatique des bandes ne correspond pas nécessairement aux titres des anticorps, déterminés à l'aide de méthodes de référence.

Même les échantillons de personnes apparemment saines peuvent présenter des autoanticorps.

En cas de concentration élevée d'immuncomplexes ou de tout autre agrégat d'immunoglobuline dans un échantillon, des résultats positifs faux dus à des liaisons non spécifiques ne sont pas à exclure.

Un diagnostic clinique définitif ne doit pas relever uniquement des résultats du test effectué, mais doit être posé par le médecin en tenant compte de l'ensemble des résultats cliniques et des analyses biologiques. Il est impératif de confirmer le diagnostic avec différentes méthodes.

6 Prélèvement des échantillons, préparation et stockage

Il est recommandé d'utiliser des échantillons frais de serum/plasma. La prise de sang doit être effectuée en conformité avec la situation juridique nationale. Ne pas utiliser d'échantillons de serum/plasma atteints par un ictère, une lipémie, une hémolyse ou contaminés par des bactéries. En cas d'échantillons troubles, centrifuger légèrement les particules (< 1000 x g). Collecter les échantillons de sang dans des tubes propres, secs et vides.

Une fois prélevés, les échantillons de serum/plasma doivent être utilisés dans les 8 h qui suivent ou conservés fermés pendant 48 h à 2-8°C/35,6-46,4°F. SI un stockage plus long est envisagé, les échantillons doivent être congelés à -20°C/-4°F. Des congélations et décongélations à répétition doivent être évitées. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4) Ne pas utiliser d'échantillons de serum/plasma activés par la chaleur (56°C/132,8°F).

7 Mode opératoire

7.1 Préparation

Dilution de réactifs concentrés :

Dissoudre éventuellement les cristaux de sel du concentré de tampon de lavage. Les cristaux peuvent être à nouveau dilués en chauffant légèrement, mais la température doit suffire.

Diluer à 1:20 le tampon de lavage concentré avec de l'eau distillée (50 ml plus 950 ml p.ex.).

Fabrication du tampon d'échantillon : ajouter 10 ml de tampon de lavage à un flacon de réactif de blocage et bien mélanger.

7.2 Etapes

Traitement manuel

Important :

Suivez exactement ce protocole. Assurez-vous que les deux éléments mentionnés dans le protocole sont ajoutés à la barre dans les étapes 2, 6, 9.

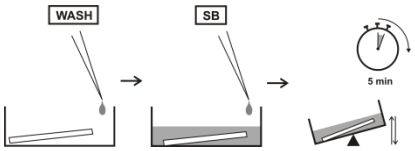
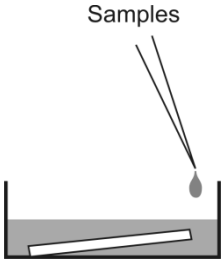
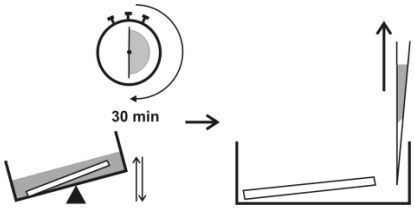
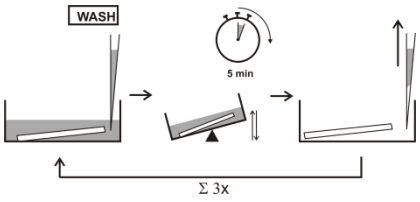
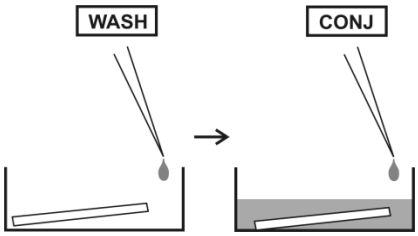
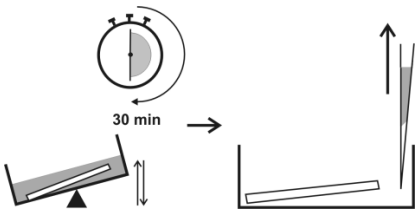
Ne pas laisser sécher les bandelettes de test entre les étapes d'incubation.

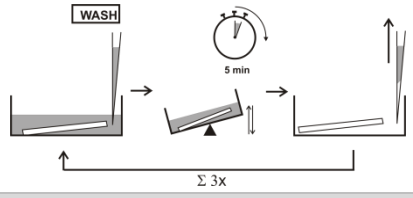
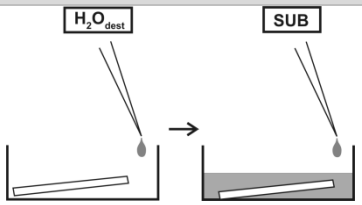
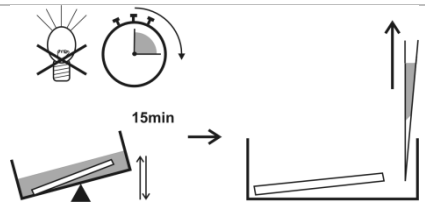
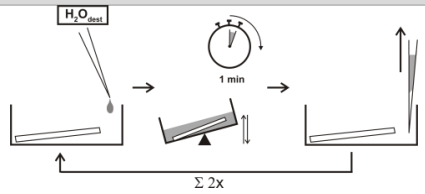
Ne pas toucher les bandelettes de test avec les mains, utiliser une pincette.

Retirer complètement les échantillons de sérum dilués après l'incubation pour éviter qu'ils ne se déplacent.

Agiter en permanence les bandelettes de test au moyen de l'agitateur-balance pendant l'incubation.

Ajouter le tampon d'échantillon, le conjugué et le substrat avec le tampon de lavage d'un côté de la boîte d'incubation. Ne pas laisser couler par-dessus la bandelette.

Etape	*Description*
1.	Assurez-vous que les préparatifs décrits au chapitre 7.1 ont été effectués avant le début du test.
2.	 Placer la bandelette dans le bon sens (ligne de contrôle et code couleur vers le haut) dans la boîte d'incubation. Ne toucher la bandelette qu'avec une pincette. Ajouter 700 µl de tampon de lavage et 300 µl de tampon d'échantillon dans la boîte d'incubation avec la bandelette. Recouvrir complètement la bandelette avec la solution et laisser incuber 5 minutes sous agitation.
ECHANTILLON	
3.	 Pipetez à chaque fois 10 µl d'échantillon de sérum dans la boîte d'incubation avec la bandelette prévue et le tampon d'échantillon.
4.	 Incuber 30 minutes à 20-32°C/68-89,6°F sous agitation. Puis retirer complètement l'échantillon.
5.	 Laver 3 fois pendant 5 minutes avec à chaque fois 1,5 ml de solution de lavage en agitant avec précaution. Retirer la solution de lavage après chaque étape de lavage.
CONJUGUE	
6.	 Ajouter 700 µl de solution de lavage et 300 µl de conjugué dans chaque boîte d'incubation contenant une bandelette.
7.	 Incuber 30 minutes à 20-32°C/68-89,6°F sous agitation. Retirer le conjugué.

8.		Laver 3 fois pendant 5 minutes avec à chaque fois 1,5 ml de solution de lavage en agitant avec précaution. Retirer la solution de lavage après chaque étape de lavage.
SUBSTRAT		
9.		Pipeter 700 µl de dH_2O et 300 µl de substrat dans chaque cavité.
10.		Incuber 15 minutes à 20-32°C/68-89,6°F sous agitation, protéger de toute exposition lumineuse intense. Retirer le substrat.
STOP		
11.		Ajouter 2 ml de dH_2O. Incuber 1 minute sous agitation. Retirer le dH_2O. Répétez l'étape
12.	Retirer la bandelette de la boîte d'incubation et sécher entre deux papiers filtre.	
13.	Analyser les bandelettes incubées dans les 24 heures.	

***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp** est également destiné à être automatiquement traité et évalué sur le système ***HELIA*® Automated Blot**.

Préparation des réactifs pour le système ***HELIA*® Automated Blot** : Diluer un volume de concentré de lavage (WASH) dans 19 volumes d'eau ultrapure (par ex. 50 ml de concentré de lavage pour 950 ml d'eau ultrapure) pour obtenir un tampon de lavage prêt à l'emploi. Tous les autres réactifs sont prêts à l'emploi lorsqu'ils sont traités à l'aide du système ***HELIA*® Automated Blot**. Pour des instructions détaillées sur les procédures de test effectuées sur le système ***HELIA*® Automated Blot**, consulter la notice d'utilisation du système ***HELIA*® Automated Blot**.

8 Analyse qualitative

Si les valeurs des bandes de contrôle ne remplissent pas les critères de validation, le test est invalide et doit être réexécuté. En cas de résultats douteux, la répétition du test avec un nouvel échantillon est également recommandée.

Les sources d'erreur suivantes doivent être contrôlées : données de conservation des réactifs, conditions de stockage, pipettes, appareils utilisés et conditions d'incubation.

Si les échantillons testés présentent des valeurs inhabituelles ou déviantes ou si les critères de validation ne sont pas remplis pour des motifs ne relevant pas de la responsabilité de l'utilisateur, merci de contacter le fabricant ou le fournisseur du kit.

Les laboratoires d'analyse médicale doivent effectuer des contrôles qualité à l'aide de contrôles qui leur sont propres et/ou de sérums conformes à la réglementation nationale.

8.1 Analyse manuelle

Le test peut être considéré comme valide lorsque

- la bande témoin de fonctionnement apparaît,
- la bande de détection est visible,
- l'intensité chromatique de la bande de détection est inférieure à celle de la bande témoin de fonctionnement.

Fixer la bandelette sèche à la feuille d'évaluation en faisant coïncider la ligne de référence. Poser le modèle d'interprétation sur la bandelette en faisant coïncider la ligne de référence. Interpréter les résultats uniquement à l'aide de la bande de détection située sur la bandelette du test considéré.

Une copie couleur de toutes les bandes pouvant être mises en évidence par le test est adjointe à chaque emballage de test.

L'interprétation s'effectue en comparant l'intensité chromatique de la bande apparue à celle de la bande de détection. Si l'intensité chromatique est comparable à celle de la bande de détection, le résultat du test doit être considéré comme douteux. En cas de coloration intense, le test est positif et en cas de faible coloration, le test est négatif.

Les résultats du test peuvent être notés sur la feuille d'évaluation.

8.2 Évaluation assistée par logiciel

L’analyse des bandelettes peut être effectuée à l’aide du logiciel AESKU.SCAN. Veuillez consulter le mode d’emploi du logiciel AESKU.SCAN.

Les résultats de test peuvent être considérés recevables si :

- Le contrôle fonctionnel est visible
- Le contrôle d’exclusion est visible
- L’intensité de couleur du contrôle d’exclusion est plus faible que celle du contrôle fonctionnel

AESKU.SCAN 2.0 :

Placer les bandelettes sèches sur la fiche de score (imprimable) alignée avec la ligne de référence. Aligner le modèle de référence avec la ligne de référence des bandelettes.

Évaluer les bandelettes conformément au mode d'emploi du logiciel AESKU.SCAN 2.0.

L'analyse qualitative des résultats est effectuée en comparant l'intensité de couleur de chaque antigène avec celle du contrôle d'exclusion.

AESKU.SCAN 3.0 :

Placer les bandelettes sur le plateau d'incubation dans le lecteur.

Évaluer les bandelettes conformément au mode d'emploi du logiciel AESKU.SCAN 3.0.

L'analyse qualitative des résultats est effectuée en comparant l'intensité de couleur de chaque antigène avec celle du contrôle d'exclusion.

Système *HELIA*® Automated Blot *:*

Les résultats sont analysés automatiquement à l'aide d'un système ***HELIA*® Automated Blot**. Les résultats peuvent être déterminés en valeurs index.

Il est suggéré de procéder à l'interprétation suivante en fonction de l'intensité du signal :

Interprétation des résultats	Symbole	Index	Couleur
Négatif	–	0,0 - <0,8	Incolore
Équivoque	+/-	≥0,8 - <1,15	Bleu
Faiblement positif	+	≥1,15 - <2,5	Jaune
Positif	++	≥2,5 - <4,0	Rouge
Fortement positive	+++	≥ 4,0	Rouge foncé

9 Technical Data

Echantillon :	sérum
Volume d'échantillon :	10 µl de sérum
Temps d'incubation total :	112 minutes à 20-32°C/68-89.6°F
Stockage :	à 2-8°C/35,6-46,4°F dans les flacons d'origine.
Nombre de tests :	24 tests

10 Caractéristiques

10.1 Étude de la fourchette normale

Expected values for ***AESKUBLOTS®*** **ANA-17 comp** were analyzed with a panel of 120 sera from healthy donors.

All assays were performed fully automated according to the current IFUs.

AESKUBLOTS® Gastro Pro - REF 4005- plage normale - rapport										
Antigène	**Nombre d'échantillons**	**Échantillons positifs**		**Échantillons équivoques**		**Échantillons négatifs**		**Min**	**Max**	**Moyenne**
		n	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**[Indice]**	**[Indice]**	**[Indice]**
U1-snRNP	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,46	0,02
snRNP/Sm	120	1	0,83	0	0,00	119	99,2	0,00	1,16	0,15
Sm	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,22	0,05
PCNA	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,70	0,04
dsDNA	120	0	0,00	2	1,67	118	98,3	0,00	0,84	0,21
Rib-P0	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,57	0,20
Nucleosomes	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,51	0,13
Histones	120	1	0,83	1	0,83	118	98,3	0,00	1,20	0,29
SS-A/Ro60	120	1	0,83	0	0,00	119	99,2	0,00	1,29	0,04
SS-A/Ro52	120	1	0,83	0	0,00	119	99,2	0,00	1,65	0,03
SS-B/La	120	1	0,83	1	0,83	118	98,3	0,00	1,23	0,12
CENP-B	120	0	0,00	1	0,83	119	99,2	0,00	1,06	0,01
Scl-70	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,28	0,01
Jo-1	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,37	0,01
PM-Scl	120	0	0,00	1	0,83	119	99,2	0,00	0,82	0,04
Mi-2	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,47	0,08
Ku	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,67	0,09

AESKUBLOTS® **ANA-17 comp** a donné des résultats équivoques et quelques résultats positifs. Les résultats équivoques et positifs les plus fréquents concernaient les antigènes ADNdb, Rib-P0 et Histones. La valeur d'indice la plus faible mesurée était de 0,0, la valeur d'indice la plus élevée mesurée était de 1,65 (SS-A/Ro52).

Dans le mode d'emploi, nous recommandons également au chapitre 8 : « Interprétation quantitative et qualitative » que chaque laboratoire établisse sa propre fourchette de valeurs normales.

10.2 Précision

Précision inter-essais

Pour déterminer les variances intra-laboratoire / inter-essais, cinq sérums différents (S1-S7) ont été testés 20 fois sur ***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp**. La concordance positive et négative a été calculée à partir de ces valeurs de test (n=20).

Calcul des concordances	
Pourcentage de concordance positive [%]	98,3
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	99,7

Précision inter-essais

Pour déterminer les variances inter-essais/journalières, cinq sérums différents (S1-S7) sur l'ensemble de la gamme ont été testés 8 fois par série, pour un total de 5 séries sur 5 jours différents (n=40). Pour le jour 1, les résultats des variances intra-laboratoire / inter-essais sont utilisés (n=20). La concordance positive et négative a été calculée à partir de ces valeurs de test.

Calcul des concordances	
Pourcentage de concordance positive [%]	99,6
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	99,9

Précision entre lots

Pour déterminer la précision entre lots, cinq sérums différents (S1-S7) ont été testés 8 fois sur 3 lots (n=24). Le lot 1 est tiré de la série 1 des données d'inter-essais. La concordance positive et négative a été calculée pour les valeurs de test des trois lots différents.

Calcul des concordances	
Pourcentage de concordance positive [%]	98,6
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	99,7

10.3 Sensibilité et spécificité diagnostiques

Une étude clinique avec 189 échantillons de sérum (comprenant 19 échantillons de sérum de patients atteints de sclérose systémique, 21 échantillons de sérum de patients atteints de LED, 35 échantillons de sérum de myosite, 3 échantillons de sérum de patients atteints du syndrome de Sjögren, 23 échantillons de sérum de patients atteints de connectivite mixte, 68 échantillons de sérum de patients atteints d'autres maladies et 40 témoins sains) a été réalisée pour déterminer la sensibilité et la spécificité diagnostiques d'***AESKUBLOTS®* ANA-17 comp.** Toutes les analyses ont été réalisées conformément aux modes d'emploi en vigueur.

Antigène	*AESKUBLOTS®* ANA-17 comp	Sensibilité [%]	Spécificité [%]
dsDNA		N.D.	93,3
Nucleosome		N.D.	100,0
Histone		N.D.	N.D.
SmD		100,0	99,1
PCNA		N.D.	100,0
Rib-PO		100,0	96,0
SS-A/Ro 60kD		83,3	99.2
SS-A/Ro 52 kD		66,7	98,4
SS-B/La		100,0	100,0
U1-snRNP		N.D.	98,3
snRNP/Sm		100,0	N.D.
CENP-B		100,0	100,0
Scl-70		N.D.	100,0
Jo-1		N.D.	96,5
PM-Scl		N.D.	100,0
Ku		N.D.	99,3
Mi-2		N.D.	100,0

10.4 Sensibilité et spécificité relatives

Pour évaluer la concordance positive (sensibilité), 50 patients testés positifs par immunofluorescence indirecte ont été testés avec ***AESKUBLOTS®* ANA-17 comp**. Pour évaluer la concordance négative (spécificité), 50 sérums de dons du sang ont été analysés.

Pourcentage de concordance positive [%]	99.1
Pourcentage de concordance négative [%]	98.0
Pourcentage de concordance globale [%]	98.8

11 Éliminatio

Pour la décontamination et l'élimination, respecter les réglementations locales et nationales en vigueur!

12 Bibliographie

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.

Littérature Générale:

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 fbes for cell biology. Adv. Immunol. 44: 93–151.

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

Lothar Thomas: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik., 8. Auflage, TH Books

CLSI Guideline GP44-A4: Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests

13 Symboles réglementaires

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	