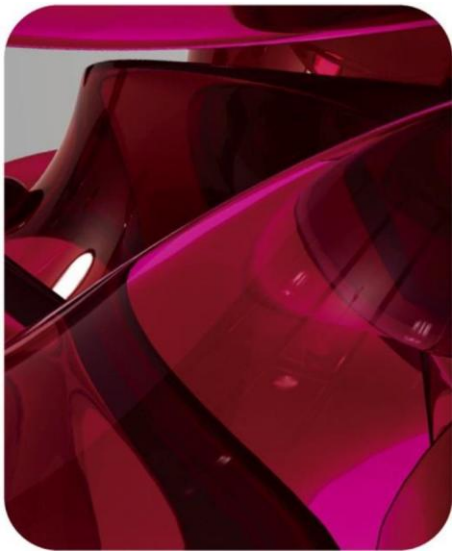
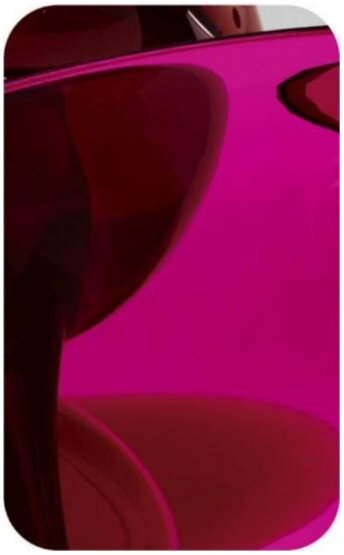
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS


AESKUBLOTS®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUALE DI ISTRUZIONI

AESKUBLOTS® ANA-17 comp

Ref 4008

CE

Manuale di istruzioni

Indice dei contenuti

1 Uso previsto 1
2 Applicazione clinica e principio del test 1
3 Contenuto del kit 3
4 Conservazione e stabilità 3
5 Precauzioni per l'uso e considerazioni generali 4
6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni 5
7 Procedura del test 6
8 Interpretazione qualitativa 9
9 Dati tecnici 11
10 Performance del test 11
11 Smaltimento del prodotto 13
12 Bibliografia 14
13 Simboli normativi 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 Uso previsto

***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp** è un dosaggio immunoenzimatico su membrana per il rilevamento qualitativo di anticorpi della sotto-classe IgG diretti contro U1-snRNP, il complesso snRNP/Sm, Sm, PCNA, dsDNA, Rib-P0, nucleosomi, istoni, SS-A/Ro60kD, SS-A/Ro52kD, SS-B/La, CENP-B, Scl-70, Jo-1, Pm-Scl, Mi-2 e Ku nel siero umano. Gli antigeni sono fissati secondo linee parallele in posizioni ben definite 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

Per la diagnosi differenziale delle malattie reumatiche sistemiche, l'individuazione sierologica degli anticorpi antinucleari (ANA) gioca un ruolo decisivo. Il rilevamento degli autoanticorpi mediante LIA (Line Immuno Assay, immunodosaggio a linee) con i corrispondenti antigeni specifici consente di differenziare in modo semplice e affidabile gli ANA in base alla loro specificità. Gli ANA sono presenti nel lupus eritematoso sistemico (LES) attivo e inattivo, nella "malattia mista del tessuto connettivo (MCTD)", nella sclerodermia, nella sindrome di Sjögren, nella cirrosi biliare primaria (PBC) e nella polimiosite. A seconda della loro rilevanza per le singole malattie autoimmuni, 17 antigeni (LES, sindrome di Sjögren, sindrome CREST, sclerodermia, MCTD, PBC e miosite) sono applicati alla striscia in ***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp.**

Anticorpi:

- Gli U1-snRNP sono patognomonici delle MCTD, ma si riscontrano anche in presenza del LES. Un alto titolo di anticorpi diretti contro questo antigene è caratteristico della sindrome di Sharp.
- snRNP/SM è composto dall'antigene Smith (Sm), dalla ribonucleoproteina (RNP) da 70 kDa U1 specifica, e anche dalle proteine A e C; viene utilizzato per la diagnosi delle malattie miste del tessuto connettivo (MCTD, Mixed Connective Tissue Diseases) e del lupus eritematoso sistemico (LES).
- 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
- I PCNA sono specifici per il LES. L'antigene è una proteina con peso molecolare di 36 kDa, che rappresenta una proteina helper della DNA polimerasi delta. Supporta la sintesi e i meccanismi di riparazione del DNA.
- I dsDNA sono considerati anticorpi specifici del LES e sono stati riscontrati all'incirca nel 50-80 % dei soggetti.
- Le proteine P-ribosomiali sono dirette contro diverse fosfoproteine della subunità ribosomiale maggiore. Si riscontrano in soggetti affetti da lupus eritematoso sistemico (Elkon et al. 1985) e in soggetti affetti da lupus con coinvolgimento cerebrale (Bonfa et al. 1987).
- I nucleosomi sono diretti contro epitopi del complesso dell'istone (nucleosoma).Inoltre, anticorpi anti-dsDNA e anti-istone possono riconoscere 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, essi hanno rilevanza patogenetica in presenza di nefrite lupica (Van Bruggen et al. 1996; Amoura et al. 1999).

- Gli istoni sono comuni nei soggetti affetti da LES. Possono tuttavia riscontrarsi anche in presenza di altre malattie del tessuto connettivo. Gli anticorpi diretti contro gli istoni, in assenza di altri auto-anticorpi (in particolare anti-dsDNA), sono un marker caratteristico del lupus eritematoso indotto da sostanze d'abuso (Rubin 1999).
- Alti titoli di SS-A (Ro; ribonucleoproteine nucleari solubili e/o citoplasmatiche di 52 kDa e 60 kDa) e di anticorpi diretti 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.
- I CENP-B (proteina B centromerica di 80 kDa) sono caratteristici della sindrome CREST (69 % dei soggetti affetti da CREST), che è una forma più avanzata di sclerosi sistemica.
- Gli Scl-70 sono diretti contro le DNA topoisomerasi I. Sono altamente specifici della sclerodermia sistemica e sono indicativi di un decorso grave della malattia.
- Gli Jo-1 sono diretti contro la istidil-tRNA-sintetasi (una proteina citoplasmatica che interviene nella biosintesi proteica) e si riscontrano nel 20-40 % dei soggetti affetti da polimiosite e dermatomiosite.
- La presenza di Pm-Scl è stata riscontrata nel 24 % dei pazienti con sindrome da sovrapposizione Pm-Scl e nel 3-10 % dei pazienti con sclerodermia e polimiosite.
- Mi-2 si trovano nel 15-20 % dei pazienti con dermatomiosite. Essi hanno un'elevata specificità diagnostica. Il 95 % dei pazienti con anticorpi anti-Mi-2 è affetto da dermatomiosite. Al contrario, nella polimiosite sono rari e quindi importanti per la diagnosi differenziale (Roux et al., 1998, Targoff 2000). L'antigene Mi-2 fa parte di un complesso multiproteico nucleare, che è coinvolto nella regolazione del ciclo di proliferazione cellulare.
- Ku reagisce principalmente con la subunità p80 o con un epitopo conformazionale sull'eterodimero p70/p80 della proteina chinasi DNA-dipendente. Si legano inoltre a proteine con omologie di sequenza a p70/p80 (per es. NFIV, TREF, EBP-80, E1BF e Ku-2). Il 5-25 % dei pazienti con sindrome da sovrapposizione polimiosite-sclerodermia e l'1-7 % dei pazienti con miosite mostrano anticorpi anti-Ku. Inoltre, si trovano in ragione di circa il 20 % nell'ipertensione polmonare primaria, del 5-10 % nel LES, del 20% nella sindrome di Sjögren primaria, e occasionalmente in altre collagenosi (Cooley et al. 1999).

Principio del test

Gli antigeni sono applicati in linee situate su strisce di membrana in nitrocellulosa. La membrana viene bloccata per prevenire legami non specifici. Le strisce di membrana con gli antigeni specifici sono incubate nei pozzetti di incubazione con campioni di siero diluiti 1:101. In questa sede, gli eventuali anticorpi specifici presenti nel siero del paziente, si legano all'antigene sulla membrana. I componenti di siero/ß non legati vengono rimossi nella seguente fase di lavaggio. Successivamente, si aggiungono anticorpi contro le immunoglobuline umane, marcati con perossidasi di rafano (coniugato). Durante l'incubazione, queste si legano al complesso antigene-anticorpo precedentemente formato, mentre le immunoglobuline non legate sono rimosse con la seguente fase di lavaggio. La rilevazione degli anticorpi legati avviene mediante una reazione cromatica enzimatica (blu), in cui il substrato incolore precipita. La reazione viene bloccata con acqua distillata.

3 Contenuto del kit

DA RICOSTITUIRE PRIMA DELL'USO				
Componente	Quantità	Colore del tappo	Colore della soluzione	Descrizione / Contenuto
Reagente bloccante	3 da 10 ml di concentrato ciascuno	bianco	Nds	Latte in polvere secco non-grasso per la preparazione di 3 tamponi campione da 10 ml
Tampone di lavaggio (20x)	1 x 50 ml	bianco	incolore	20 volte concentrato per la preparazione di 1 litro di tampone TRIS, pH 6,9 ± 0,2
PRONTO ALL'USO				
Componente	Quantità	Colore del tappo	Colore della soluzione	Descrizione / Contenuto
IgG, coniugato	1 x 10 ml	blu	incolore	Immunoglobulina G anti-umana (IgG) coniugata con perossidasi di rafano
Tampone substrato	1 x 10 ml	nero	incolore	TMB stabilizzato /H_2O_2
Strip di membrana	24 strip	codice colore: rosso	Nds	Per gli antigeni rivestiti si rimanda all'Uso previsto
pinzette, modello di riferimento, tabella di valutazione, striscia adesiva (biadesiva, bianco)	1 pezzo ciascuno	Nds	Nds	Nds
vaschetta d'incubazione	3 pezzi	Nds	Nds	Nds
Etichette per tampone campione	3 pezzi	Nds	Nds	Nds
MATERIALE OCCORRENTE, MA NON FORNITO NEL KIT				
Piastra oscillante, bombola da 1000 ml, pipetta o bombola da 10 ml, pipette di precisione (10, 1000 µl), carta assorbente o filtrante. I nostri test sono concepiti 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 stabilità

Conservare tutti i reagenti e le strip di membrana a una temperatura compresa tra 2 e 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 considerazioni generali

5.1 Dati sulla sicurezza

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

Un codice colore, posizionato sopra la linea di riferimento delle strip, contraddistingue i vari test ***AESKUBLOTS***® disponibili:

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 contenute sul prodotto, etichette incluse, risultassero inesatte, contattare il produttore o il fornitore del kit.

Il reagente bloccante e il tampone di lavaggio sono interscambiabili tra lotti di kit differenti. Tutti gli altri componenti si intendono specifici di ogni singolo kit e pertanto non sono interscambiabili. Non si devono scambiare le componenti tra test di autoimmunità e diagnostica per Borrelia.

Per manipolare il coniugato non utilizzare recipienti in polistirene.

Prima dell'uso portare tutti i componenti a temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F), miscelare bene e seguire lo schema di incubazione prescritto per una performance ottimale del test.

Non esporre mai i componenti ad una temperatura superiore a 37 °C/ 98,6 °F.

Pipettare la soluzione del substrato sempre ed esclusivamente con puntali nuovi. Proteggere questo reagente da fonti luminose. Non pipettare mai il coniugato con puntali utilizzati precedentemente per altri reagenti.

L'intensità del colore di banda non è necessariamente correlata ai titoli di un anticorpo rilevati con altre metodologie di riferimento.

Campioni provenienti da donatori di sangue apparentemente sani possono contenere autoanticorpi.

Se il campione clinico contiene livelli elevati di complessi immuni o di altri aggregati di immunoglobuline, non sarà possibile escludere risultati falso positivi per mezzo di un legante non-specifico.

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 e 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 Preparazione preliminare

Verificare che non si siano formati cristalli di sale nel concentrato. In caso contrario occorre sciogliere i cristalli scaldando leggermente il concentrato (la temperatura ambiente dovrebbe essere sufficiente).

Diluire il tampone di lavaggio concentrato a 1:20 con acqua distillata (ad es. 50 ml + 950 ml).

Per la preparazione del tampone campione: aggiungere 10 ml del tampone di lavaggio ad un flacone di Reagente bloccante e miscelare bene.

7.2 Fasi del test

Indicazioni importanti:

Seguire esattamente questo protocollo. Assicurarsi che i due componenti citati nel protocollo vengono aggiunti al vassoio in fasi 2, 6, 9.

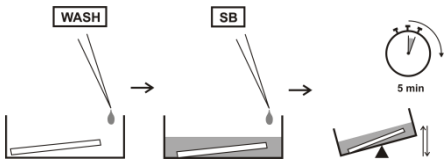
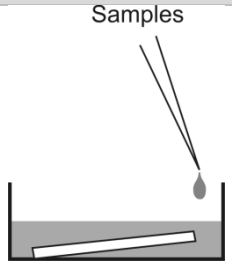
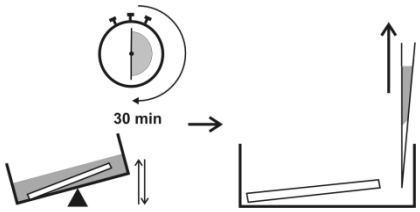
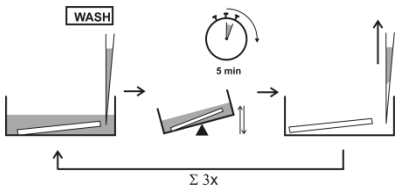
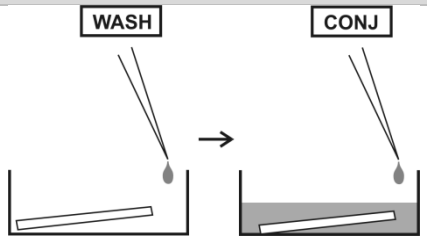
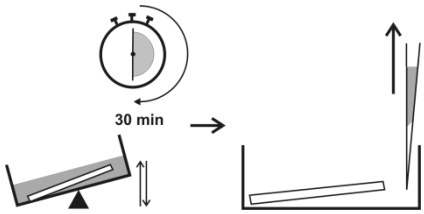
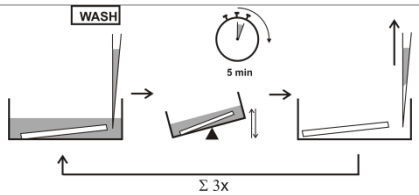
Evitare che la strip si asciughi durante le fasi di incubazione.

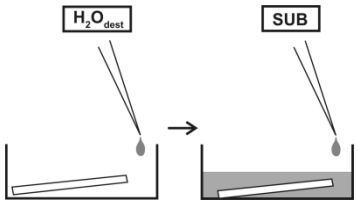
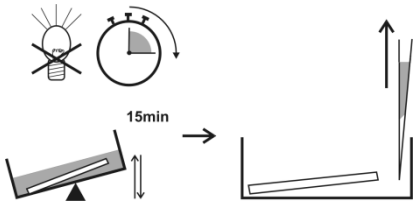
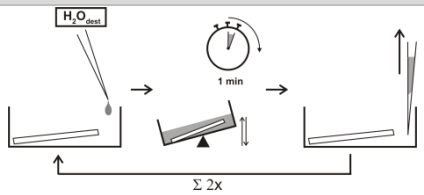
Non afferrare la strip con le dita, utilizzare le pinzette.

Rimuovere i campioni diluiti subito dopo l'incubazione, per evitare il prolungarsi dell'azione.

Agitare costantemente la strip durante le fasi di incubazione.

Collocare il tampone campione, il coniugato e il substrato unitamente con il tampone di lavaggio su un lato della vaschetta d'incubazione. Non contaminare la striscia.

Fase	*Descrizione*
1.	Prima di iniziare il test assicurarsi che le preparazioni, dalla fase 7.1 descritta sopra, siano state eseguite.
2.	 Posizionare correttamente la strip nella vaschetta d'incubazione (linea di riferimento e codice colore rivolti 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 bene.
CONTROLLI E CAMPIONI	
3.	 Pipettare 10 µl di campione di siero nei pozzetti predisposti della vaschetta d'incubazione con il tampone campione.
4.	 Incubare per 30 minuti a 20-32 °C/68-89,6 °F, agitando bene. Dopodiché rimuovere completamente il campione.
5.	 Lavare 3 volte per 5 minuti con 1,5 ml di tampone di lavaggio, agitando bene. 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 la strip.
7.	 Incubare per 30 minuti a 20-32 °C/68-89,6 °F, agitando bene. Rimuovere il coniugato.
8.	 Lavare 3 volte per 5 minuti con 1,5 ml di tampone di lavaggio, agitando bene. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio.

SUBSTRATO		
9.		Pipettare 700 µl di dH_2Oe 300 µl di substrato in ogni vaschetta d'incubazione con la strip.
10.		Incubare per 15 minuti a 20-32 °C/68-89,6 °F, agitando bene, al riparo da fonti luminose intense. Rimuovere il substrato.
STOP		
11.		Pipettare 2 ml di dH_2O in ogni vaschetta d'incubazione con la strip. Incubare per 1 minuto, agitando bene. Rimuovere dH_2O. Replicare una volta.
12.	Rimuovere la strip dalla vaschetta d'incubazione. Asciugare la strip con carta assorbente	
13.	Analizzare i risultati entro 24 ore.	

***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp** 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

Nel caso in cui i valori dei controlli non corrispondano ai criteri stabiliti il test non è valido e deve essere ripetuto. Si raccomanda di ritestare i campioni borderline.

Verificare inoltre le seguenti problematiche tecniche: data di scadenza dei reagenti (preparati), condizioni di conservazione, pipette, attrezzatura, condizioni di incubazione e metodi di lavaggio.

Se i campioni testati evidenziano valori aberranti o anomalie di qualsiasi tipo, oppure i criteri di validazione non vengono raggiunti per ragioni non imputabili alla responsabilità dell'operatore, contattare il produttore o il fornitore del kit di test.

I laboratori medici possono eseguire un controllo qualità interno, utilizzando metodologie proprie e/o sieri coltivati internamente, secondo quanto stabilito dalle normative nazionali vigenti.

8.1 Analisi manuale

I risultati del test possono considerarsi validi se:

- è visibile un controllo funzionale
- è visibile un controllo Cut-off
- l'intensità del colore del controllo Cut-off è più debole di quella 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 colore 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 del campione:	siero
Volume del campione:	10 µl
Tempo di incubazione complessivo:	112 minuti a 20-32 °C/68-89,6 °F
Conservazione:	a 2-8 °C/35,6-46,4 °F; utilizzare esclusivamente flaconi originali.
Numero di determinazioni:	24 test

10 Performance del test

10.1 Studio del range di normalità

I valori attesi per ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 comp** 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 comp. – REF 4008 – Range di normalità - Report											
Antigene	**Numero di campioni**	**Campioni positivi**		**Campioni dubbi**		**Campioni negativi**		**Min [Indice]**	**Max [Indice]**	**Media [Indice]**	**DS***
		n	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**				
U1-snRNP	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,46	0,02	0,07
snRNP/Sm	120	1	0,83	0	0,00	119	99,2	0,00	1,16	0,15	0,13
Sm	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,22	0,05	0,05
PCNA	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,70	0,04	0,11
dsDNA	120	0	0,00	2	1,67	118	98,3	0,00	0,84	0,21	0,17
Rib-P0	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,57	0,20	0,12
Nucleosomi	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,51	0,13	0,09
Istoni	120	1	0,83	1	0,83	118	98,3	0.05	1,20	0,29	0,16
SS-A/Ro60	120	1	0,83	0	0,00	119	99,2	0,00	1,29	0,04	0,12
SS-A/Ro52	120	1	0,83	0	0,00	119	99,2	0,00	1,65	0,03	0,16
SS-B/La	120	1	0,83	1	0,83	118	98,3	0,00	1,23	0,12	0,17
CENP-B	120	0	0,00	1	0,83	119	99,2	0,00	1,06	0,01	0,10
Scl-70	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,28	0,01	0,04
Jo-1	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,37	0,01	0,04
PM-Scl	120	0	0,00	1	0,83	119	99,2	0,00	0,82	0,04	0,10
Mi-2	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,47	0,08	0,09
Ku	120	0	0,00	0	0,00	120	100,0	0,00	0,67	0,09	0,12

*deviazione standard

***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp** ha prodotto alcuni risultati dubbi e alcuni positivi. Prevalentemente, i risultati dubbi e positivi hanno mostrato gli antigeni dsDNA, Rib-P0 e istoni. Il valore di indice più basso misurato è stato 0,0, quello più alto 1,65 (SS-A/Ro52).

Nelle IFU, al capitolo 8: "Interpretazionequalitativa", raccomandiamo inoltre che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di normalità.

10.2 Precisione

Precisione intra-saggio

Per determinare le varianze intra-laboratorio/intra-saggio, sette diversi sieri (S1-S7) sono stati analizzati per 20 volte su ***AESKUBLOTS*® ANA-17 comp**. La concordanza positiva e negativa è stata calcolata da questi valori del test (n=20).

Calcolo delle concordanze	
Percentuale di concordanza positiva [%]	98,3
Percentuale di concordanza negativa [%]	100,0
Percentuale di concordanza complessiva [%]	99,7

Precisione inter-saggio

Per determinare le varianze inter-saggio/giorno per giorno, sono stati analizzati sette diversi sieri (S1-S7) 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 [%]	99,6
Percentuale di concordanza negativa [%]	100,0
Percentuale di concordanza complessiva [%]	99,9

Precisione fra lotti

Per determinare la precisione fra lotti, sette diversi sieri (S1-S7) 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 [%]	98,6
Percentuale di concordanza negativa [%]	100,0
Percentuale di concordanza complessiva [%]	99,7

10.3 Sensibilità e specificità diagnostica

È stato condotto uno studio clinico su 189 campioni di siero (comprendenti 19 campioni di pazienti con sclerosi sistemica, 21 campioni di pazienti con LES, 35 campioni di pazienti con miosite, 3 campioni di pazienti con sindrome di Sjögren, 23 campioni di pazienti con MCTD, 68 campioni di pazienti con altre malattie e 40 controlli sani) per determinare la sensibilità e la specificità diagnostica di ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 comp**. Tutti i test sono stati eseguiti conformemente alle istruzioni per l'uso aggiornate.

Antigen	***AESKUBLOTS***® ANA-17 comp	Sensibilità [%]	Specificità [%]
dsDNA		N.D.*	93,3
Nucleosomi		N.D.*	100
Histoni		N.D.*	N.D.*
SmD1		100	99,1
PCNA		N.D.*	100
Rib-PO		100	96,0
SS-A/Ro 60kD		83,3	99,2
SS-A/Ro 52 kD		66,7	98,4
SS-B/La		100	100
U1-snRNP		N.D.*	98,3
snRNP/Sm		100	N.D.*
CENP-B		100	100
Scl-70		N.D.*	100
Jo-1		N.D.*	96,5
PM-Scl		N.D.*	100
Ku		N.D.*	99,3
Mi-2		N.D.*	100

* non determinato

10.4 Sensibilità e specificità relative

Per determinare la correlazione positiva (sensibilità) sono stati analizzati in ***AESKUBLOTS***® **ANA-17 comp** 50 pazienti positivi al test IIF. Per determinare la correlazione negativa (specificità), sono stati analizzati 50 campioni di siero di donatori di sangue.

Correlazione positiva [%]	99,1
Correlazione negativa [%]	98,0
Correlazione totale [%]	98,8

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.

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 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	