



## **AUTO I.D.<sup>®</sup> SSA/Ro und SSB/La AUTOANTIKÖRPER-TESTSYSTEM**

**Nur zur In vitro-Diagnostik**  
**Für Professionellen Gebrauch**

*BEABSICHTIGTER VERWENDUNGSZWECK: Das AUTO I.D.<sup>®</sup> SSA/Ro und SSB/La Autoantikörper-Testsystem ist ein Ouchterlonie-Immundiffusionstestsystem zum Nachweis von Autoantikörpern gegen SSA/Ro, SSB/La und andere Autoantigene in humanem Serum. Der Test dient als Hilfestellung bei der Diagnose von systemischem Lupus erythematosus, Sjögren-Syndrom oder anderen rheumatischen Erkrankungen.*

### **ZUSAMMENFASSENDE ERKLÄRUNG DES TESTS**

In Kochsalzlösung lösliche Zellproteine werden als extrahierbare nukleäre Antigene oder ENA bezeichnet. ENA-Antikörper werden mit mehreren Autoimmunsyndromen in Verbindung gebracht und haben offenbar einen diagnostischen und/oder prognostischen Wert bei systemischer Sklerose (1, 2), gemischter Bindegewebskrankheit (3-5), Sjögren-Syndrom (6, 7), Polymyositis (8), Dermatomyositis (9), systemischem Lupus erythematosus (5) und rheumatoider Arthritis (10). Zu den häufiger auftretenden Antikörper-Spezifitäten zählen: Smith (Sm); Ribonukleoprotein (RNP oder U1-RNP); SSA/Ro; SSB/La; Jo-1; Scl-70 sowie PCNA (proliferierendes nukleäres Antigen, 11). Der antinukleäre Antikörpertest (ANA) wird als Screening-Test für diese Antikörper verwendet, gibt jedoch keinen Hinweis auf die Spezifität der Antikörper, und Antikörper gegen einige ENA weisen keine positiven ANA-Testwerte auf (12, 13). Es wird deshalb dringend ein zweiter Bestätigungstest für Antikörper gegen ENA empfohlen (14).

SSA und SSB wurden ursprünglich als nukleäre RNA-Proteinantigene bei Patienten mit Sjögren-Syndrom beschrieben (6,7). Ro und La wurden als zytoplasmische RNA-Proteinantigene bei Patienten mit SLE beschrieben (15, 16). Inzwischen wird allgemein akzeptiert, dass SSA und Ro analog sind, dass SSB und La analog sind, und dass diese Antigene sowohl im Nukleus als auch im Zytoplasma vorkommen. Antikörper gegen SSA/Ro allein oder SSA/Ro und SSB/La treten bei 70 bis 90% der Patienten mit subakut-kutanem Lupus auf (11, 17), sowie bei 85% der Patienten mit Sjögren-Syndrom, die eine Vaskulitis entwickeln (18). Antikörper gegen SSA/Ro allein treten bei Patienten mit homozygotem Defekt der C2-Komplementärfraktion auf (11, 19), sowie bei Patienten mit primärer biliärer Leberzirrhose, die Sjögren-Syndrom (20) entwickeln, und bei bis zu zwei Dritteln der Patienten mit „ANA-negativem SLE“ (21).

### **FUNKTIONSWEISE DES TESTS**

Für den Nachweis spezifischer Antikörper gegen nukleäre Antigene steht eine Reihe von Tests zur Verfügung. Zu den am häufigsten verwendeten Methoden zählen Ouchterlonie-Immundiffusion, passive Hämagglutination, Kontraimmunelektrophorese und ELISA (14). Die Ouchterlonie-Immundiffusionsmethode (ID) wird derzeit am häufigsten verwendet, da sie relativ einfach handzuhaben und zu interpretieren ist.

Das SSA/Ro und SSB/La AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörper-Testsystem von Immuno Concepts zum Nachweis von Antikörpern gegen nukleäre Antigene vom Typ SSA/Ro und SSB/La arbeitet mit der Ouchterlonie-Immundiffusionstechnik. Der Test nutzt das spezielle nukleäre Antigenpräparat von Immuno Concepts, das eine Reihe nukleärer Antigene enthält, welche mit Antikörpern reagieren, wie sie bei Patienten mit systemischen rheumatischen Erkrankungen auftreten.

Das nukleäre Antigen wird in die mittlere Vertiefung der Agarose-Platte gegeben, die umliegenden sechs Probevertiefungen werden mit Kontrollseren und Patientenproben gefüllt. Nach Inkubation bei Zimmertemperatur bildet sich im Agarose-Gel an der Stelle, an der das nukleäre Antigen diffundiert und auf den homologen Antikörper trifft, eine Präzipitatlinie. Die Seren werden auf Antigen-/Antikörperspezifität geprüft, indem die Präzipitatlinien von Patientenproben und Kontrollseren auf Identität oder partielle Identität untersucht werden. Seren, die keine Präzipitatlinien bilden, sind als negativ einzustufen. Antikörper mit unterschiedlicher Spezifität können im Vergleich mit den Kontrollseren dieses Tests nicht-identische Präzipitatlinien erzeugen.

## SYSTEMKOMPONENTEN - IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN

**Verwendung:** Alle Kontrollseren werden gebrauchsfertig geliefert. Es ist keine Verdünnung, Aliquotierung oder Rekonstitution erforderlich. Das nukleäre Antigen ist lyophilisiert und muss vor Gebrauch mit destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituiert werden.

**Aufbewahrung:** Alle Komponenten können im Kühlschrank bei 2-10°C aufbewahrt werden. Rekonstituiertes nukleäres Antigen sollte innerhalb von 5 Tagen aufgebraucht oder in gefrorenem Zustand bei -20°C oder darunter aufbewahrt werden.

**Haltbarkeit:** Alle Kontrollseren sind bis mindestens 12 Monate nach Herstellungsdatum haltbar. Agaroseplatten sind bis mindestens 24 Monate nach Herstellungsdatum haltbar. Lyophilisierte nukleäre Antigene sind bis mindestens 12 Monate nach Herstellungsdatum haltbar. Nach der Rekonstitution ist nukleäres Antigen 5 Tage bei 2-10°C bzw. 90 Tage in gefrorenem Zustand bei -20°C oder darunter haltbar. Für rekonstituierte Antigene ist es am besten, wenn sie in 30 µl-Teilproben bei -20°C oder darunter aufbewahrt werden.

### REAKTIVE REAGENZIEN

**AUTO I.D.<sup>®</sup> nukleäres Antigen **ANTIGEN**:** Katalognummer 6050 (0,2 ml). Lyophilisiertes, von Säugetieren extrahiertes nukleäres Antigen, das Smith (Sm), U1-Ribonukleoprotein (RNP), SSA/Ro, SSB/La und andere Antigene enthält, die in der Regel mit Antikörpern von Patienten mit systemischer rheumatischer Erkrankung reagieren. Jedes Fläschchen muss vor Gebrauch mit 200 µl destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituiert werden.

**Herstellung:** Die Metallkappe vom Antigen-Fläschchen abnehmen. Den Gummistopper vorsichtig abheben, damit Luft in das Fläschchen gelangen kann. Den Stopper abnehmen und 200 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser in das Fläschchen geben. Den Gummistopper wieder aufsetzen und das Fläschchen sanft wirbeln, um den Inhalt aufzulösen. Das rekonstituierte Antigen vor Gebrauch mindestens 30 Minuten stehen lassen, um sicherzustellen, dass es vollständig gelöst ist. Rekonstituiertes Antigen kann Trübungen aufweisen. Unmittelbar vor Gebrauch nochmals wirbeln.

**SSA/Ro und SSB/La Positivkontrollserum **CONTROL +**:** Katalognummer 7002 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ SSA/Ro und SSB/La reagieren. Dieses Serum zeigt ausgeprägte Präzipitatlinien, die mit den CDC-Referenzseren zu diesen Antigenen identisch sind.

**SSA/Ro Positivkontrollserum **CONTROL +**:** Katalognummer 7001 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ SSA/Ro reagieren. Dieses Serum zeigt eine ausgeprägte Präzipitatlinie, die mit dem CDC-Referenzserum zu diesem Antigen identisch ist.

### NICHT-REAKTIVE KOMPONENTEN

**AUTO I.D.<sup>®</sup> Platten **PLATE**:** Katalognummer 7010. Agarose-Platten mit sieben Vertiefungen, vornummeriert zur leichteren Identifizierung der Proben.

**Vorbereitung:** Platten vor Öffnen des Folienbeutels auf Zimmertemperatur (18-25°C) kommen lassen. Platte vorsichtig aus dem Folienbeutel nehmen. Evtl. vorhandene Kondensation an der Innenseite des Deckels kann mit Saugpapier oder einem fusenfreien Papierhandtuch entfernt werden. Die Agarose möglichst nicht berühren.

# ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN - NICHT MIT GELIEFERT

Präzisionspipetten für Volumina von 20 µl, 30 µl, 100 µl und 200 µl  
Teströhrchen  
Deionisiertes oder destilliertes Wasser  
Immundiffusions-Leuchttisch mit Vergrößerer  
Einmalhandschuhe

## OPTIONAL ERHÄLTICHE KOMPONENTEN

Für den Fall, dass positive undefinierte Präzipitatlinien erzielt werden, sind zusätzliche Kontrollseren zur Unterstützung bei der Bestimmung der Antikörperspezifität erhältlich. Den Test mit den entsprechenden gebrauchsfertigen Kontrollseren wiederholen, die in die Vertiefungen neben den Patientenproben gegeben werden, und die Ergebnisse anhand der Richtlinien im Abschnitt „Allgemeine Interpretation der Ergebnisse“ interpretieren.

**SSB/La Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 7003 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ SSB/La reagieren.

**RNP Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 6001 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ U1-Ribonukleoprotein (RNP) reagieren.

**Sm/RNP Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 6002 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ Smith (Sm) und U1-Ribonukleoprotein (RNP) reagieren.

**Jo-1 Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 6004 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit Jo-1-Antigen reagieren.

**Scl-70 Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 6005 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ Scl-70 reagieren.

**PCNA-Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 6006 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit proliferierenden nukleären Antigenen (PCNA) reagieren.

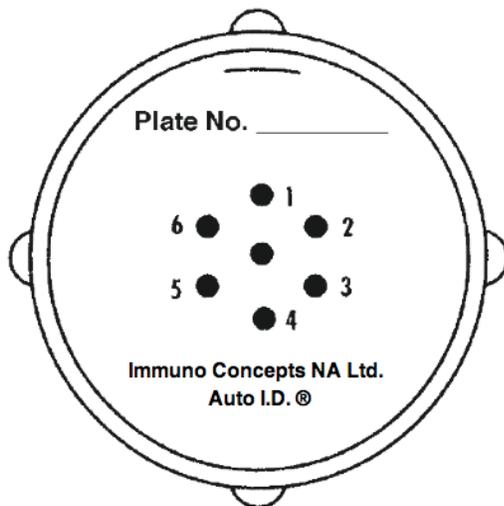
## SICHERHEITSHINWEISE

1. Sämtliche für dieses Produkt verwendeten Materialien menschlichen Ursprungs wurden nach von der FDA anerkannten Methoden negativ (nicht wiederholt reaktiv) auf Antikörper gegen HIV-1, HIV-2, Hepatitis-C (HCV) und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) getestet. Keine Testmethode kann jedoch mit absoluter Sicherheit nachweisen, dass keine HIV-1, HIV-2, Hepatitis-C oder Hepatitis-B-Viren oder andere infektiöse Agenten vorhanden sind. Daher sollten alle Kitbestandteile wie potenziell infektiöse Materialien gehandhabt werden.
2. Einige Reagenzien enthalten Natriumazid (0,09%) als Konservierungsmittel. Beim Entsorgen der Reagenzien mit reichlich Leitungswasser nachspülen, damit im Abfluss keine Rückstände verbleiben. Natriumazid ist giftig und kann bei Verschlucken toxisch wirken.
3. AUTO I.D.<sup>®</sup> Platten nicht einfrieren. Platten vor Gebrauch stets auf Zimmertemperatur bringen, um einheitliche Ergebnisse zu erzielen.
4. Wiederholtes Einfrieren/Auftauen von rekonstituierten nukleären Antigenen vermeiden.
5. Neu rekonstituiertes nukleäres Antigen vor Gebrauch mindestens 30 Minuten lang bei Zimmertemperatur stehen lassen, um sicherzustellen, dass das Antigen vollständig gelöst ist.
6. Eine Substitution der Komponenten aus anderen Immuno Concepts AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörper-Testsystemen ist akzeptabel. Eine Substitution mit Komponenten anderer Hersteller kann zu inkonsistenten Ergebnissen führen.
7. Abrupte Temperaturschwankungen der Luft können zur Bildung von Artefakten führen. Die besten Ergebnisse lassen sich erzielen, wenn die Platten in einer kontrollierten Temperaturumgebung und vor Luftzug geschützt inkubiert werden. Nicht bei 37°C inkubieren.

8. Einige Seren liefern, bedingt durch das Prozon-Phänomen (Überschuss an Antikörpern) evtl. falsch-negative Ergebnisse. Falls das Prozon-Phänomen ein Problem darstellt, den Test mit Verdünnungen des Patientenserums in PBS wiederholen.
9. Einige Patientenserum, die Phospholipide enthalten, bilden unter Umständen rund um die Patientenvertiefung breite Präzipitatbänder. Dies sollte nicht als positive Reaktion bewertet werden.
10. Dieses Testsystem ist ausschließlich zur *InVitro*-Diagnostik bestimmt.

## TESTMETHODEN

AUTO I.D.® Tests können mit ein- oder zweistufigen Protokollen verwendet werden, um entweder minimalen Zeitaufwand oder maximale Wirtschaftlichkeit zu erzielen. Im Folgenden werden allgemeine Richtlinien vorgestellt, mit deren Hilfe ein optimales Protokoll für die spezifischen Anforderungen jedes Labors eingerichtet werden kann.



### Screening mit niedrigen Volumina und/oder Testen zur Bestätigung eines Ergebnisses (Methode 1)

- Vertiefung 1 - Patient 1
- Vertiefung 2 - monospezifisches Antikörperkontrollserum (SSA/Ro)
- Vertiefung 3 - Patient 2
- Vertiefung 4 - gemischtes Antikörperkontrollserum (SSA/Ro/SSB/La)
- Vertiefung 5 - Patient 3
- Vertiefung 6 - gemischtes Antikörperkontrollserum (SSA/Ro/SSB/La)
- Mittlere Vertiefung - nukleäres Antigen

### Screening und/oder Titrierung mit hohen Volumina (Methode 2)

- Vertiefung 1 - Patient 1
- Vertiefung 2 - Patient 2
- Vertiefung 3 - Patient 3
- Vertiefung 4 - Patient 4
- Vertiefung 5 - Patient 5
- Vertiefung 6 - gemischtes Antikörperkontrollserum (SSA/Ro/SSB/La)
- Mittlere Vertiefung - nukleäres Antigen

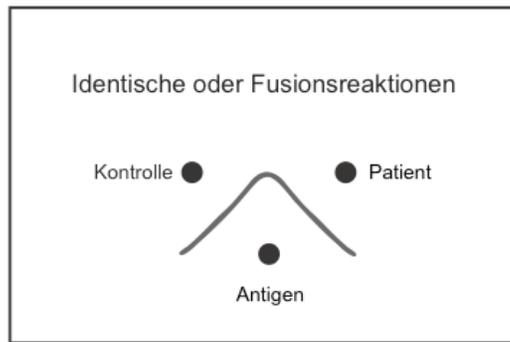
Patientenserum, die nach Methode 2 nach 18-24 Stunden Präzipitatlinien zeigen, sollten nach Methode 1 weiter auf Spezifität getestet werden.

## PROBENGEWINNUNG

Serum sollte mit aseptischer Technik gewonnen werden. Das Serum muss so bald wie möglich abgetrennt werden, um Hämolyse zu vermeiden. Stark hämolytische, lipämische oder durch Mikrowachstum verunreinigte Seren dürfen nicht verwendet werden. Serumproben können bei einer Temperatur von 2-10°C maximal 48 Stunden vor Verwendung aufbewahrt werden. Sollen die Proben länger aufbewahrt werden, müssen sie bei -20°C oder darunter eingefroren werden.

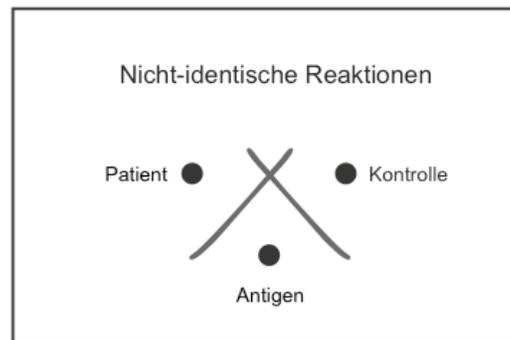
## ALLGEMEINE INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die korrekte Interpretation der Patientenergebnisse hängt von der klaren Auflösung der Präzipitatlinie zwischen den Vertiefungen mit Patientenserum und mit nukleärem Antigen ab. Die Bestimmung der Antikörperspezifität des Patienten hängt von der korrekten Interpretation der Präzipitatlinien zwischen den Vertiefungen mit Patientenserum und den benachbarten Kontrollvertiefungen ab. Die folgenden Definitionen sollen als Ausgangsbasis für die Interpretation der Reaktionen zwischen Patientenserum und Kontrollserum dienen.



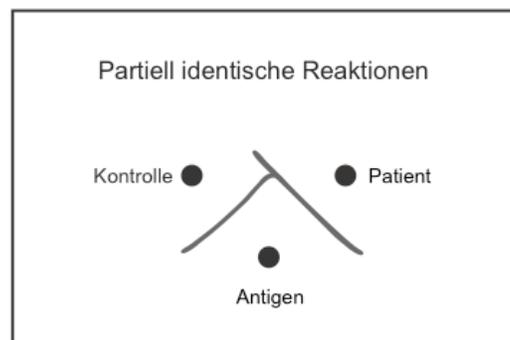
Präzipitatlinien, die eine kontinuierliche Linie zwischen Patienten- und Kontrollserum bilden, sind ein Zeichen dafür, dass die Antikörper in jedem Serum mit identischen nukleären Antigenen reagieren.

Patientenproben, die identische Präzipitatlinien aufweisen, sind als positiv mit der Antikörperspezifität der Kontrollprobe anzugeben.



Präzipitatlinien, die sich zwischen Patienten- und Kontrollserum überkreuzen, sind ein Zeichen dafür, dass die Antikörper in jedem Serum mit unterschiedlichen nukleären Antigenen reagieren.

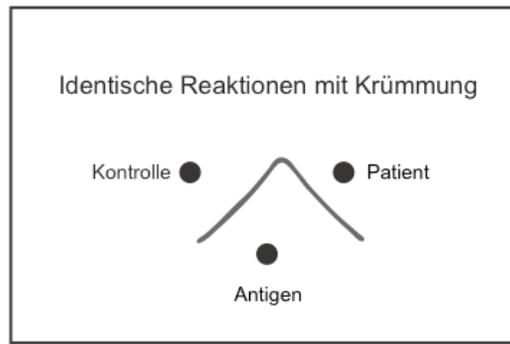
Proben, die nicht-identische Präzipitatlinien aufweisen, sind als positiv mit „unbestimmter Präzipitatlinie“ anzugeben. Es wird empfohlen, weitere Tests mit anderen Kontrollseren zur Bestimmung der Antikörper-Spezifität durchzuführen (siehe „Optional erhältliche Komponenten“).



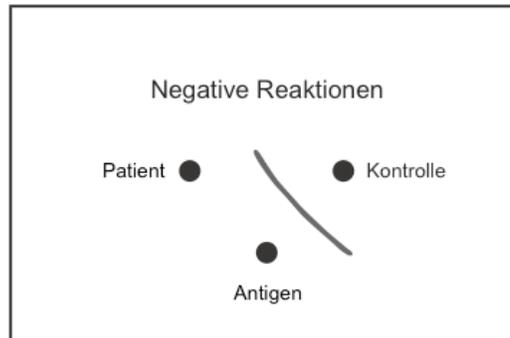
Präzipitatlinien, die zwischen Patienten- und Kontrollvertiefung einen „Sporn“ bilden, sind ein Zeichen dafür, dass Antikörper in Patienten- und Kontrollserum mit einem identischen Antigen reagieren, dass jedoch das Patientenserum auch einen Antikörper enthält, der mit einem unterschiedlichen Antigen reagiert, welches nicht mit dem Kontrollserum reagiert.

**ACHTUNG:** Partiiell identische Reaktionen sind am schwierigsten zu interpretieren. Die Präzipitatlinie der Kontrollprobe bildet an der Kontaktstelle mit der Präzipitatlinie der Patientenprobe oft eine Kurve. Die Präzipitatlinien genau ansehen, um sicherzustellen, dass die Präzipitatlinie der Patientenprobe nicht die Präzipitatlinie der Kontrollprobe kreuzt.

Präzipitatlinien, die eine gekrümmte durchgehende Linie zwischen Patienten- und Kontrollvertiefungen bilden, sind ein Zeichen dafür, dass jedes Serum mit identischen nukleären Antigenen reagiert, dass jedoch das Patientenserum mehr oder weniger Antikörper als das Kontrollserum enthält.



Patientenproben, die gekrümmte Präzipitatlinien aufweisen, sind als positiv mit der Spezifität der Kontrollprobe anzugeben.

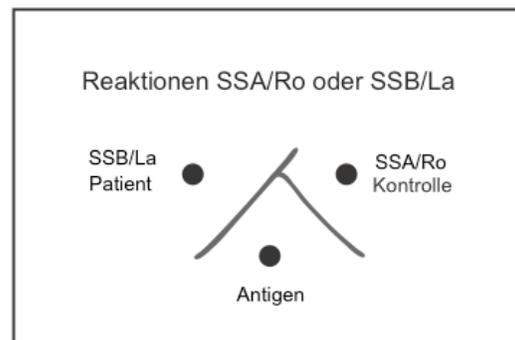


Es bildet sich nur mit dem Kontrollserum eine Präzipitatlinie. Patientenproben, die keine Präzipitatlinien bilden, sind als negativ anzugeben.

## TECHNISCHE INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

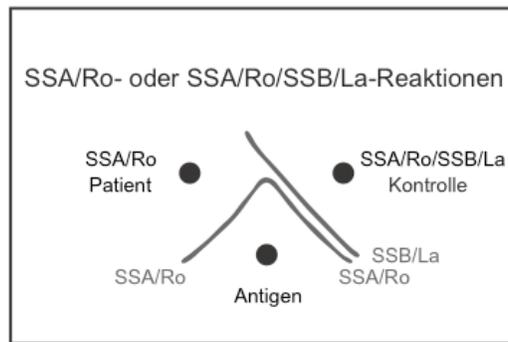
### SSA/Ro oder SSB/La

Antikörper gegen SSA/Ro und SSB/La zeigen in der Regel sich kreuzende Präzipitatlinien, was auf Nicht-Identität verweist. SSA/Ro Präzipitatlinien zeigen sich in der Regel schmal und ausgeprägt, während SSB/La Präzipitatlinien breiter und weniger ausgeprägt erscheinen.



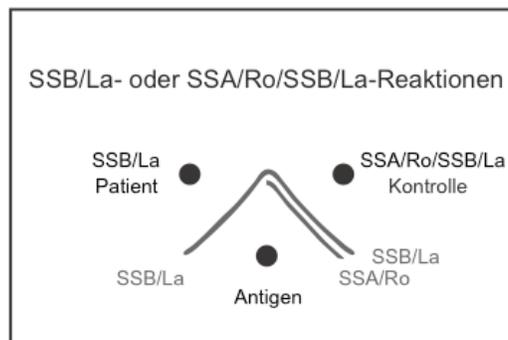
### SSA/Ro oder SSA/Ro/SSB/La

Seren, die monospezifisch für SSA/Ro-Antikörper sind, werden im Allgemeinen von Seren unterschieden, die Antikörper gegen SSA/Ro und SSB/La enthalten, indem die Präzipitateigenschaften und die Reaktivität mit Kontrollseren zur Bestimmung herangezogen werden. Seren mit ausschließlich SSA/Ro-Antikörpern bilden in der Regel eine schmale, ausgeprägte Präzipitatlinie, die mit dem SSA/Ro-Kontrollserum identisch ist. Seren mit Antikörpern gegen SSA/Ro und SSB/La bilden eine schmale Präzipitatlinie, die mit dem SSA/Ro-Kontrollserum identisch ist, und eine breite Präzipitatlinie, die mit dem SSB/La-Kontrollserum identisch ist. Bei einigen Seren, die positiv für Antikörper gegen SSA/Ro und SSB/La sind, können die beiden Präzipitatlinien teilweise fusioniert erscheinen.



### SSB/La oder SSA/Ro/SSB/La

Die Unterscheidung von Seren, die monospezifisch für SSB/La-Antikörper sind, von Seren, die SSA/Ro/SSB/La-Antikörper enthalten, kann unter Umständen schwierig sein, da die SSB/La-Präzipitatlinie in der Regel breiter und weniger ausgeprägt als die SSA/Ro-Präzipitatlinie erscheint. Zur Bestätigung, dass ein Serum Antikörper gegen SSA/Ro und SSB/La enthält, müssen beide Präzipitatlinien deutlich sichtbar sein. In der Regel gilt, dass eine breite Präzipitatlinie als Zeichen für Identität mit dem SSB/La-Kontrollserum anzusehen ist, und eine schmale Präzipitatlinie als Zeichen für Identität mit dem SSA/Ro-Kontrollserum. Die SSA/Ro-Präzipitatlinie kann unter Umständen teilweise mit der SSB/La-Präzipitatlinie fusioniert erscheinen. Eine Reihenverdünnung der Seren kann unter Umständen die Unterscheidung erleichtern.



### Titrierung

Die zweifache Reihenverdünnung der Patientenserum kann zu einer semiquantitativen Bestimmung spezifischer Antikörper in einem positiven Serum verwendet werden. Die Titrierung kann ebenso für die Interpretation der in der Nähe der Vertiefung mit dem nukleären Antigen stattfindenden Reaktionen hilfreich sein, wenn sich beim ersten Screening ein Überschuss an Antikörpern zeigt. Die Titrierung ist als reziprok zur letzten Verdünnung, die deutliche Präzipitatlinien identisch zu den Kontrollseren aufweist, anzugeben.

## BESCHRÄNKUNGEN DES TESTS

1. Auch wenn ein positives Ergebnis als Zeichen für eine systemische rheumatische Erkrankungen zu sehen ist, ist der diagnostische Wert eher gering. Das Ergebnis sollte vielmehr in Zusammenhang mit dem klinischen Gesamtprofil des Patienten bewertet werden.
2. Die AUTO I.D.<sup>®</sup> Testsysteme von Immuno Concepts sind für den Nachweis von Autoantikörpern gegen Antigene vom Typ Sm, RNP, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Jo-1 und PCNA bei der Mehrzahl der Patienten ausgelegt. Gelegentliche Proben mit sehr hohen oder sehr niedrigen Antikörperwerten können wie bei jedem Ouchterlonie-Immudiffusionstestsystem zu falsch-negativen Ergebnisse führen. Eine PBS-Verdünnung der Proben oder eine Konzentration der Antikörper durch Doppel- oder Dreifachbefüllung der Patientenvertiefungen kann den Nachweis bei diesen Proben verbessern.
3. Das nukleäre Antigen AUTO I.D.<sup>®</sup> von Immuno Concepts enthält eine Mischung von Säugetier-Autoantigenen. Deshalb können Patientenserum Präzipitatlinien mit Antigenen aufweisen, die keine identischen Reaktionen mit den in diesem Testsystem enthaltenen Kontrollseren zeigen. Derartige Seren sollten mit Kontrollseren für andere Antigen-Spezifitäten noch einmal getestet werden (siehe „Optional erhältliche Komponenten“).

## ERWARTETE WERTE

Immunspezifizität der Autoantikörper gegen nukleäre Antigene (Daten aus Literaturhinweis 14)	
Antikörper gegen:	Assoziierte Erkrankung:
Sm	SLE: 25-40%; Marker-Antikörper
Nukleäres RNP (U1-RNP)	MCTD: 95-100%; geringere Häufigkeit bei SLE, diskoidem lupus, PSS
SSA/Ro	Sjögren-Syndrom: 60-70%; SLE: 30-40%; Lupus-Syndrom bei Neugeborenen: 100%
SSB/La	Sjögren-Syndrom: 50-60%; SLE: 10-20%
PCNA	SLE: 10%; Marker-Antikörper
Scl-70	PSS: 15-20%; Marker-Antikörper
Jo-1	Polymyositis: 31%; Marker-Antikörper
PM-Scl (PM-1)	Polymyositis/Skleroderma Überschneidung: 64%;

Abkürzungen: SLE = systemischer Lupus erythematosus, MCTD = gemischte Bindegewebskrankheit, PSS = progressive systemische Sklerose, Sm = Smith-Antigen, PCNA = proliferierendes nukleäres Antigen.

## LEISTUNGSFÄHIGKEIT DES TESTS

**Nachweis:** Das SSA/Ro/SSB/La AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörper-Testsystem von Immuno Concepts wurde mit insgesamt 61 negativen und positiven Patientenserum getestet, die von qualifizierten Referenzlabors (22) bezogen wurden. Bei 96,7% der getesteten Seren gab es eine Übereinstimmung. Acht Seren waren positiv für SSB/La-Antikörper, ein Serum war positiv für SSA/Ro und SSB/La-Antikörper, drei Seren waren positiv für SSA/Ro-Antikörper. 15 Seren wiesen „undefinierte Präzipitatlinien“ auf. In weiteren Tests mit dem Sm/RNP AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörper-Testsystem von Immuno Concepts waren zwölf dieser Seren positiv für RNP-Antikörper, zwei Seren waren positiv für Sm/RNP-Antikörper und ein Serum war positiv für Sm-Antikörper. 32 Seren waren negativ für alle nachweisbaren Autoantikörper gegen nukleäre Antigene. Die beiden Seren mit Diskrepanzen waren ursprünglich als positiv für SSA/Ro und SSA/Ro/SSB/La-Antikörper eingestuft worden. Diese Seren wurden mit zwei anderen, im Handel erhältlichen Testsystemen weiter getestet, wobei im Vergleich zu den SSA/Ro, SSB/La und U1-RNP-Kontrollprototypen unklare Präzipitatlinien auftraten (es waren keine deutlichen Linien für Identität oder Nicht-Identität zu erkennen).

**Testgenauigkeit:** Sechs Seren, die positiv für SSA/Ro/SSB/La-Antikörper waren, wurden bei drei Gelegenheiten doppelt getestet. In allen Fällen zeigten sich bei allen Testergebnissen identische Antikörper-Spezifitäten: Fünf Seren waren einheitlich positiv für SSA/Ro und SSB/La-Antikörper, ein Serum war einheitlich positiv für SSB/La-Antikörper.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Douvas, A.S., Achten, M., Tan, E.M. Identification of a Nuclear Protein (Sci-70) as a Unique Target of Human Antinuclear Antibodies in Scleroderma. Biol. Chem. 245:10514 - 10522, 1979.
2. Moroi, Y., Peebles, C., Fritzier, M.J., et al. Autoantibody to Centromere (Kinetochore) in Scleroderma Sera. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 77:1627-1631, 1980.
3. Cohen, M.L., Dawkins, B., Dawkins, R.L., et al. Clinical Significance of Antibodies to Ribonucleoprotein. Ann. Rheum. Dis. 38:74-78, 1979.
4. Sharp, G.C., Irwin, W.S., Tan, E.M., et al. Mixed Connective Tissue Disease--An Apparently Distinct Rheumatic Disease Syndrome Associated with a Specific Antibody to Extractable Nuclear Antigen (ENA). Am. J. Med. 52:148-159, 1972.
5. Sharp, G.C., Irwin, W.S., May, L.M., et al. Association of Antibodies to Ribonucleoprotein and Sm antigens with Mixed Connective Tissue Disease, Systemic Lupus Erythematosus and Other Rheumatic Disease. N. Engl. J. Med. 295:1149-1154, 1976.
6. Alspaugh, M.A., Tan, E.M. Antibodies to Cellular Antigens in Sjögren's Syndrome. J. Clin. Invest. 55:1067-1073, 1975.
7. Alspaugh, M.A., Talal, N., Tan, E.M. Differentiation and Characterization of Autoantibodies and Their Antigens in Sjögren's Syndrome. Arthritis Rheum. 19:216-222, 1976.
8. Wolfe, J.F., Adelstein, E., Sharp, G.C. Antinuclear Antibody with Distinct Specificity for Polymyositis. J. Clin. Invest. 59:176-178, 1977.
9. Nishikai, M., Reichlin, M. Purification and Characterization of a Nuclear, Nonhistone Basic Protein (Mi-1) Which Reacts with Antinuclear Globulin Sera and the Sera of Patients with Dermatomyositis. Mol. Immunol. 17:1129-1131, 1980.
10. Alspaugh, M. A., Tan, E.M. Serum Antibody in Rheumatoid Arthritis Reactive with a Cell-Associated Antigen. Demonstration of Precipitation and Immunofluorescence. Arthritis Rheum. 29:711-719, 1976.
11. von Mühlen, C.A. and Tan, E.M. Autoantibodies in the Diagnosis of Systemic Rheumatic Diseases. Sem. Arthritis Rheum. 24:323-358, 1995.
12. Holden, D.J., Brownell, A.K.W., and Fritzier, M.J. Clinical and Serologic Features of Patients with Polymyositis or Dermatomyositis. Can. Med. Assoc. J. 132:649-653, 1985.
13. Hoy, E.S. Detection of Autoantibodies to the SSA/Ro Antigen: Comment on the Article by Boire et al (letter). Arthritis Rheum. 35:1109-1112, 1992.
14. Fritzier, M.J., Tan, E.M. Antinuclear Antibodies and the Connective Tissue Diseases. In: Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases (Third Edition), Chapter 8, Grune and Stratton, 1985.
15. Clark, G., Reichlin, M., and Tomasi, T.B. Characterization of a Soluble Cytoplasmic Antigen Reactive with Sera from Patients with Systemic Lupus Erythematosus. J. Immunol. 102:117-122, 1969.
16. Mattioli, M. and Reichlin, M. Heterogeneity of RNA Protein Antigens Reactive with Sera of Patients with Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheum. 17:421-429, 1974.
17. Sontheimer, R.D., Maddison, P.J., Reichlin, M., et al. Serologic and HLA Associations in Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus, a Clinical Subset of Lupus Erythematosus. Ann. Intern. Med. 97:664-671, 1982.
18. Alexander, E.L., Arnett, F.C., Provost, T.T., et al. Sjögren's Syndrome: Association of Anti-Ro (SSA) Antibodies with Vasculitis, Hematologic Abnormalities, and Serologic Hyperreactivity. Ann. Intern. Med. 98:155-159, 1983.
19. Provost, T.T., Arnett, F.C., and Reichlin, M. Homozygous C2 Deficiency, Lupus Erythematosus, and Anti-Ro (SSA) Antibodies. Arthritis Rheum. 26:1279-1282, 1983.
20. Wasicek, C.A. and Reichlin, M. Clinical and Serological Differences Between Systemic Lupus Erythematosus Patients with Antibodies to Ro versus Patients with Antibodies to Ro and La. J. Clin. Invest. 69:835-843, 1982.
21. Maddison, P.J., Provost, T.T., and Reichlin, M. Serological Findings in Patients with "ANA Negative" Systemic Lupus Erythematosus. Medicine 60:87-94, 1981.
22. Data on file. Immuno Concepts, Inc., Sacramento, California.

**Im Falle der Beschädigung der Schutzverpackung treten Sie vor Gebrauch bitte mit Immuno Concepts in Verbindung.**

	Hersteller		Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	Temperatur-Beschränkung		Enthält genügendes für <n> Tests
	Beachten Sie die Anwendungsvorschriften		In vitro Medizinische Diagnoseeinheit
	MDSS GmbH Schiffgraben 41 D-30175 Hannover, Germany		

Immuno Concepts, N.A. Ltd.	9825 Goethe Road, Suite 350	Sacramento, CA. 95827
Technical Support	USA: 1.800.251.5115	Outside USA: 1.916.363.2649
Email: <a href="mailto:technicalsupport@immunoconcepts.com">technicalsupport@immunoconcepts.com</a>		

Cat 7000-I,

4.11.02.003.097-De

Rev 3.0 © Copyright 2014

# AUTO-I.D.<sup>®</sup> TESTVERFAHREN

- 1. NUKLEÄRES ANTIGEN REKONSTITUIEREN**

Das Fläschchen mit nukleärem Antigen durch Zugabe von 200 µl destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Das rekonstituierte Fläschchen vor Gebrauch mindestens 30 Minuten bei Zimmertemperatur (18-25°C) stehen lassen, um sicherzustellen, dass das Antigen vollständig gelöst ist. Vor Gebrauch sanft wirbeln.  
**HINWEIS:** Rekonstituiertes Antigen kann Trübungen aufweisen. Für rekonstituierte Antigene ist es am besten, wenn sie in 30 µl-Teilproben bei -20°C oder darunter aufbewahrt werden. Antigen vor Gebrauch auf Zimmertemperatur kommen lassen.
- 2. AUTO I.D.<sup>®</sup> PLATTE(N) VORBEREITEN**

Platten vor Öffnen der Folie auf Zimmertemperatur (18-25°C) kommen lassen. Platte vorsichtig aus dem Folienbeutel nehmen. Evtl. vorhandene Kondensation an der Innenseite des Deckels kann mit Saugpapier oder einem fusenfreien Papierhandtuch entfernt werden. Die Agarose möglichst nicht berühren.
- 3. DAS AUTO I.D.<sup>®</sup> ARBEITSBLATT AUSFÜLLEN**

Plattennummer, Kontrollspezifität nach Vertiefungsnummer sowie Patientenidentifikation nach Vertiefungsnummer für jede Probe aufzeichnen. Die Chargennummer des AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörpertestsystems ebenfalls auf dem AUTO I.D.<sup>®</sup> Arbeitsblatt notieren.
- 4. PATIENTENPROBEN VERDÜNNEN (OPTIONAL)**

Zum Titrieren oder bei Auftreten eines Prozon-Phänomens (Überschuss an Antikörpern) sind evtl. Verdünnungen der Patientenserumproben erwünscht. Zum Verdünnen von Patientenproben wird Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS) verwendet. Patientenproben durch Zugabe von 100 µl unverdünntem Patientenserum zu 100 µl PBS 1:2 verdünnen. Für die weitere Titrierung zweifache Reihenverdünnungen der Serumprobe (z. B. 1:2, 1:4, 1:8, ... 1:64) unter Verwendung von PBS herstellen.
- 5. VERTIEFUNGEN FÜLLEN**

20 µl nukleäres Antigen in die mittlere Vertiefung der AUTO I.D.<sup>®</sup> Platte geben. 20 µl Patientenprobe bzw. Kontrollserum in die nummerierten Vertiefungen geben. Dabei wie im Abschnitt „Testmethoden“ beschrieben vorgehen. Deckel wieder aufsetzen.
- 6. PATIENTENPROBEN DOPPELT BEFÜLLEN (OPTIONAL)**

Gelegentliche Proben mit sehr niedrigen Antikörperwerten können wie bei jedem Ouchterlonie-Immundiffusionstestsystem zu schwachen oder falsch-negativen Ergebnisse führen. Eine Konzentration der Antikörper durch Doppel- oder Dreifachbefüllung der Patientenvertiefungen kann den Nachweis bei diesen Proben verbessern. Die Konzentration der Proben lässt sich durch erneutes Befüllen der Patientenvertiefung mit zusätzlich 20 µl Serum nach ca. 30 Minuten erreichen.
- 7. PLATTEN INKUBIEREN**

Die gefüllten Platten vorsichtig in einen kleinen Behälter legen, um sie vor Luftzug zu schützen, und bei Zimmertemperatur (18-25°C) 18-24 Stunden lang inkubieren lassen. Nicht bei 37°C inkubieren.  
**ACHTUNG:** Luftzug und abrupte Temperaturschwankungen können zur Bildung von Artefakten führen. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Platten in einer kontrollierten Temperaturumgebung inkubiert werden.
- 8. PLATTEN AUSWERTEN**

Platten nach 18-24 Stunden auf einem Leuchttisch mit Vergrößerer auswerten. Siehe den Abschnitt „Interpretation der Ergebnisse“ für Richtlinien zur Auswertung der Präzipitatlinien.  
**HINWEIS:** Bei den meisten Seren sollten die Ergebnisse innerhalb von 18 Stunden zu sehen sein. Bei einigen niedrig-titrierten Seren können die Präzipitatlinien nach 24 und 48 Stunden noch deutlicher werden.

**TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG:** +1-916-363-2649  
oder via E-Mail: [technicalsupport@immunoconcepts.com](mailto:technicalsupport@immunoconcepts.com)