



AUTO I.D.[®] SSA/Ro OCH SSB/La AUTOANTIKROPPANALYS **För diagnostisk användning in vitro** **För yrkesmässigt bruk**

AVSEDD ANVÄNDNING: Detta är ett immundiffusionstestsystem enligt Ouchterlony för detektion av autoantikroppar mot SSA/Ro, SSB/La och andra autoantigener i humanserum. Resultaten av detta testsystem kan användas som ett hjälpmedel vid diagnostisering av systemisk lupus erythematosus, Sjögrens syndrom och andra reumatiska sjukdomar.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET

Cellformiga proteiner som är lösbara i saltlösning kallas extraherbara nukleära antigener, eller ENA. Antikroppar mot ENA har associerats med flera autoimmuna syndrom och verkar vara av diagnostisk och/eller prognostisk betydelse vid systemisk skleros (1, 2), blandad bindvävssjukdom (3-5), Sjögrens syndrom (6, 7), polymyosit (8), dermatomyosit (9), systemisk lupus erythematosus (5) och reumatoid artrit (10). Några av de mer vanliga antikropps specificiteterna omfattar: Smith (Sm), ribonukleoprotein (RNP eller U1-RNP), SSA/Ro; SSB/La, Jo-1, Scl-70 och förökande cellnukleär antigen (PCNA) (11). Det antinukleära antikropp-(ANA)-testet har använts för screening av dessa antikroppar, men ANA anger inte antikroppens specificitet, och antikroppar mot vissa ENA ger inte ett positivt ANA-svar (12, 13). Därför rekommenderas denna andra bekräftande analys av antikroppar mot ENA (14).

SSA och SSB beskrevs ursprungligen som nukleära RNA-proteinantigener hos patienter med Sjögrens syndrom (6, 7). Ro och La beskrevs som cytoplasmiska RNA-proteinantigener hos patienter med SLE (15, 16). Det är i dag vida accepterat att såväl SSA och Ro som SSB och La är likartade, och att dessa antigener påträffas i både kärnan och cytoplasman. Antikroppar mot enbart SSA/Ro eller SSA/Ro och SSB/La påträffas hos 70-90% av patienterna med subakut kutan lupus (11, 17) och hos 85% av patienter med Sjögrens syndrom som utvecklar vaskulit (18). Antikroppar mot enbart SSA/Ro påträffas hos patienter som har homozygot brist på C2-komplementfragment (11, 19), patienter med primär biliär cirros som utvecklar Sjögrens syndrom (20) samt hos högst två tredjedelar av patienter med "ANA-negativ SLE" (21).

TESTPRINCIP

Det finns ett antal analyser för detektion av specifika antikroppar mot nukleära antigener. De vanligaste metoderna är: Ouchterlony immundiffusion, passiv hemagglutination, kontraimmunelektrofores samt ELISA (14). Immundiffusionsmetoden enligt Ouchterlony (ID) är i dag den analys som används mest, då den är lämplig och relativt enkel att utföra och tolka.

Immuno Concepts SSA/Ro och SSB/La AUTO I.D.[®]-autoantikropptestsystem för detektion av antikroppar mot SSA/Ro och SSB/La nukleära antigener använder immundiffusionsmetoden enligt Ouchterlony. Testet använder sig av Immuno Concepts exklusiva framställning av nukleärantigener som omfattar ett flertal nukleära antigener som reagerar med antikroppar påträffade hos patienter med systemisk reumatisk sjukdom. Nukleärantigenen är placerad i en central brunn i agarosplattan med kontrollsera och patientserumprover belägna i sex omgivande provbrunnar. Efter inkubation i rumstemperatur bildas en fällningslinje i det agarosgel där nukleärantigenen breder ut sig och stöter på den homologa antikroppen. Sera testas i fråga om antigen/antikropps specificitet genom att dessa fällningslinjer studeras med avseende på överensstämmelse eller delvis överensstämmelse mellan patientprov och kontrollsera. Sera som inte bildar fällningslinjer betraktas som negativa. Antikroppar med olika specificiteter kan skapa icke överensstämmande linjer jämfört med de kontrollsera som används i analysen.

SYSTEMKOMPONENTER – INGÅENDE MATERIAL

Användning: Alla kontrollsera levereras bruksfärdiga. Ingen spädning, alikvotering eller rekonstitution behövs. Den nukleära antigenen levereras frystorkad och måste rekonstitueras med destillerat eller avjoniserat vatten före användning.

Förvaring: Alla komponenterna kan kylförvaras i 2-10°C. Rekonstituerad nukleär antigen skall användas inom fem dagar eller förvaras i fruset tillstånd i alikvoter i -20°C eller lägre.

Stabilitet: Alla kontrollsera är stabila i minst tolv månader från och med tillverkningsdatum. Agarosplattorna är stabila i 24 månader från och med tillverkningsdatum. Frystorkad nukleär antigen är stabil i minst tolv månader från och med tillverkningsdatum. Efter rekonstitution är den nukleära antigenen stabil i fem dagar vid 2-10°C eller 90 dagar i fruset skick i -20°C eller lägre. Förvara den rekonstituerade antigenen i 30 µl alikvoter i -20°C eller lägre för att uppnå bästa resultat.

REAKTIVA REAGENSER

AUTO I.D.[®] nukleär antigen **ANTIGEN:** Kat. nr 6050 (0,2 ml). Frystorkad extraherad nukleär antigen från däggdjur som innehåller Smith (Sm), U1-ribonukleoprotein (RNP), SSA/Ro, SSB/La och andra antigener som vanligtvis reagerar med antikroppar från patienter med systemisk reumatisk sjukdom. Varje ampull måste rekonstitueras med 200 µl destillerat eller avjoniserat vatten före användning.

Framställning: Avlägsna metallocket från den nukleära antigenampullen. Lyft försiktigt på gummipluggen för att ventiler ampullen. Avlägsna pluggen och tillsätt 200 µl destillerat och avjoniserat vatten i ampullen. Byt ut gummipluggen och snurra försiktigt för att lösa upp innehållet. Låt den rekonstituerade antigenen stå i minst 30 minuter före användning för att försäkra dig om att antigenen har lösts upp helt och hållet. Rekonstituerad antigen kan se grumlig eller oklar ut. Snurra precis före användning.

SSA/Ro/SSB/La-positivt kontrollserum **CONTROL|+:** Kat. nr 7002 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva mot SSA/Ro och SSB/La-nukleära antigener. Detta serum uppvisar starka fällningslinjer som överensstämmer med CDC-referensserumet för dessa antigener.

SSA/Ro-positiv kontroll **CONTROL|+:** Kat. nr 7001 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva mot SSA/Ro-nukleär antigen. Detta serum uppvisar en enda stark fällningslinje som överensstämmer med CDC-referensserat för denna antigen.

ICKE-REAKTIVA KOMPONENTER

AUTO I.D.[®]-plattor **PLATE:** Kat. nr 7010. Sjubrunnars agarosplattor som innehåller förnumrerade brunnar för att garantera enkel identifiering av patienter.

Framställning: Låt plattan nå rumstemperatur (18-25°C) innan du öppnar foliepåsen. Avlägsna plattan försiktigt från foliepåsen. Kondensation på plattlockets insida kan avlägsnas med läskpapper eller luddfri pappershandduk. Undvik att röra agarosen.

YTTERLIGARE MATERIAL SOM BEHÖVS – MEN EJ MEDFÖLJER

Volymetriska pipetter för volymerna 20 µl, 30 µl, 100 µl och 200 µl

Provrör

Avjoniserat eller destillerat vatten

Ljusimmundiffusionslåda och förstoringsglas

Engångshandskar

ÖVRIGA TILLGÄNGLIGA KOMPONENTER

Om positiva odefinierade resultat erhålls för precipitinlinjerna kan antikroppspecifiteten fastställas med hjälp av ytterligare kontrollsera. Upprepa testet med lämpliga bruksfärdiga kontrollsera placerade i de brunnar som angränsar till patientprovet och tolka resultatet enligt riktlinjerna i avsnittet "Allmän tolkning".

SSB/La-positivt kontrollserum **CONTROL|+:** Kat. nr 7003 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva mot SSB/La-nukleär antigen.

RNP-positivt kontrollserum **CONTROL|+:** Kat. nr 6001 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva mot U1-ribonukleoprotein-(RNP)-nukleär antigen.

Sm/RNP-positivt kontrollserum CONTROL| +: Kat. nr 6002 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva mot Smith (Sm) och U1-ribonukleoprotein-(RNP)-nukleära antigener.

Jo-1-positivt kontrollserum CONTROL| +: Kat. nr 6004 (0.5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar reaktiva mot Jo-1-antigen.

Scl-70-positivt kontrollserum CONTROL| +: Kat. nr 6005 (0.5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar reaktiva mot Scl-70-nukleär antigen.

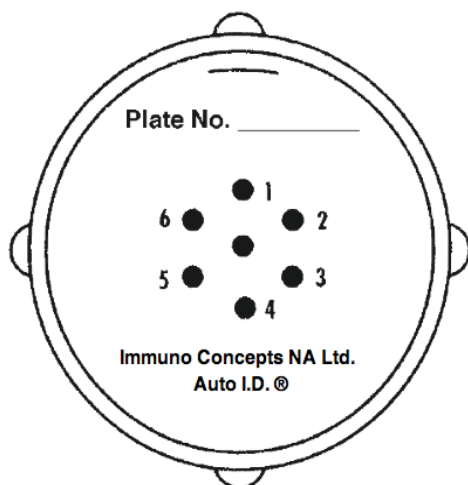
PCNA-positivt kontrollserum CONTROL| +: Kat. nr 6006 (0.5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar reaktiva mot förökande cellnukleär antigen (PCNA).

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Allt material av humant ursprung som använts i denna produkt har testats med FDA-godkända metoder och visat sig vara negativt (inte upprepat reaktivt) för antikroppar mot humant immunbristvirus-1 (HIV-1), humant immunbristvirus-2 (HIV-2), hepatit C-virus (HCV) och hepatit B yntigen (HBsAg). Ingen testmetod kan emellertid helt garantera att det inte förekommer HIV-1, HIV-2, hepatit-C, hepatit-B eller andra smittämnen. Därför skall allt satsmaterial hanteras som potentiellt smittsamt.
- Natriumazid (0,09%) används som konserveringsmedel. När reagenserna kasseras skall man spola med rikliga mängder kranvatten för att skölja bort eventuella rester i avloppsledningarna. Natriumazid är ett gift och kan vara toxiskt vid förtäring.
- Frys inte AUTO I.D.-®-plattorna. Värm alltid plattorna till rumstemperatur före användning för att säkerställa konsekventa resultat.
- Undvik att frysa/tina rekonstituerade nukleära antigener flera gånger.
- Låt alltid nyrekonstituerade nukleära antigener stå minst 30 minuter i rumstemperatur före användning för att säkerställa att antigenen har lösts upp helt och hållet.
- Det är tillåtet att byta ut komponenter mot andra AUTO I.D.-®-autoantikroppstestsystem från Immuno Concepts. Om du byter ut komponenter mot komponenter från andra tillverkare kan detta ge motsägande resultat.
- Plötsliga förändringar av lufttemperaturen kan leda till att artefaktprecipitinlinjer bildas. Odlä plattorna i kontrollerad temperatur och skyddade från luftströmmar för bästa resultat. Odlä inte vid 37°C.
- Vissa sera kan uppvisa falskt negativa resultat på grund av ett prozonfenomen (för många antikroppar). Om prozonfenomenet är ett bekymmer, kan man upprepa testet genom att använda spädningar av patientserum i PBS.
- Vissa patientsera som innehåller fosfolipider kan bilda breda band av fällningar som omsluter hela patientbrunnen. Detta skall inte tolkas som en positiv reaktion.
- Denna sats är avsedd för diagnostisk användning *in vitro*.

TESTMETODER

AUTO I.D.-®-tester kan upprättas i enstegs- och tvåstegsprotokoll för att uppnå minsta körtid eller högsta lönsamhet. Följande allmänna riktlinjer rekommenderas som ett hjälpmedel för att upprätta ett protokoll som är optimalt för varje laboratoriums specifika krav.



Lågvolymscreening och/eller bekräftelsetestning (Metod 1)

- Brunn 1 - Patient 1
- Brunn 2 - Monospecifik antikroppkontroll (SSA/Ro)
- Brunn 3 - Patient 2
- Brunn 4 - Blandad antikroppkontroll (SSA/Ro/SSB/La)
- Brunn 5 - Patient 3
- Brunn 6 - Blandad antikroppkontroll (SSA/Ro/SSB/La)
- Centrumbrunn - Nukleär antigen

Högvolymscreening och/eller bestämning av antikroppnivå (Metod 2)

- Brunn 1 - Patient 1
- Brunn 2 - Patient 2
- Brunn 3 - Patient 3
- Brunn 4 - Patient 4
- Brunn 5 - Patient 5
- Brunn 6 - Blandad antikroppkontroll (SSA/Ro/SSB/La)
- Centrumbrunn - Nukleär antigen

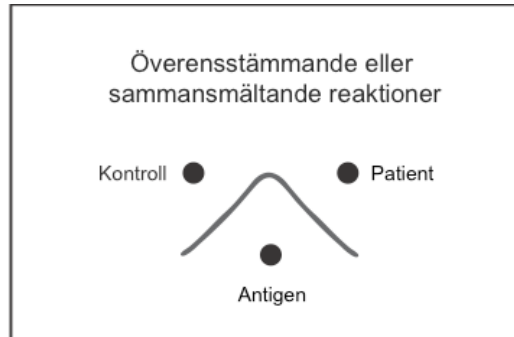
Patientsera som uppvisar precipitinlinjer med metod 2 efter 18-24 timmar skall testas ytterligare för specificitet med metod 1.

PROVTAGNING

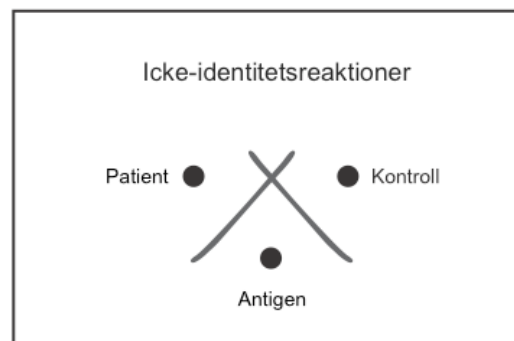
Serum bör tas aseptiskt. Serum skall så snart som möjligt separeras från koagler för att förhindra hemolys. Sera som har en hög grad av hemolys, lipemi, eller mikrobiell tillväxt skall inte användas. Sera kan lagras i 2-10°C upp till 48 timmar före användning. Om testning fördröjs ytterligare, skall sera frysas i -20°C eller lägre.

RESULTAT - ALLMÄN TOLKNING

Korrekt tolkning av patientresultat beror på hur klar upplösningen av precipitinlinjen är mellan patientserum och nukleära antigenbrunnar. Fastställandet av patientantikropsspecificiteten är beroende av att precipitinlinjerna mellan patientserum och angränsande kontrollbrunnar har tolkats korrekt. Följande definitioner är avsedda som grundläggande riktlinjer för tolkning av reaktionerna mellan patientsera och kontrollsera.

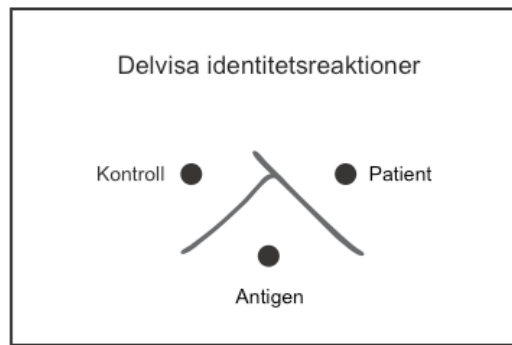


Precipitinlinjer som bildar en kontinuerlig linje mellan patient- och kontrollsera betyder att antikroppar i varje serum reagerar med identiska nukleära antigener. Patientprover som uppvisar överensstämmande precipitinlinjer rapporteras som positiva med en antikropsspecificitet som är identisk med kontrollen.



Precipitinlinjer som går mellan patient- och kontrollsera betyder att antikropparna i respektive serum reagerar med olika nukleära antigener.

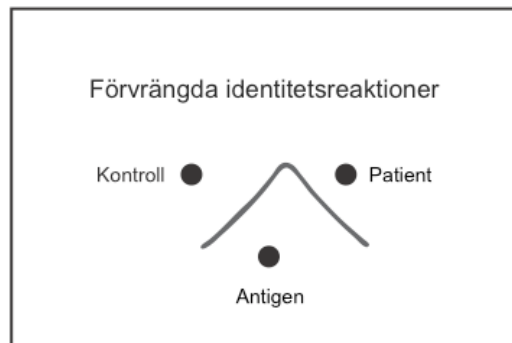
Prover som uppvisar icke överensstämmande precipitinlinjer rapporteras som positiva med "odefinierad precipitinlinje" (UPL)-reaktivitet. Ytterligare analys med andra kontroller rekommenderas för fastställande av antikropsspecificitet (se "Övriga tillgängliga komponenter").



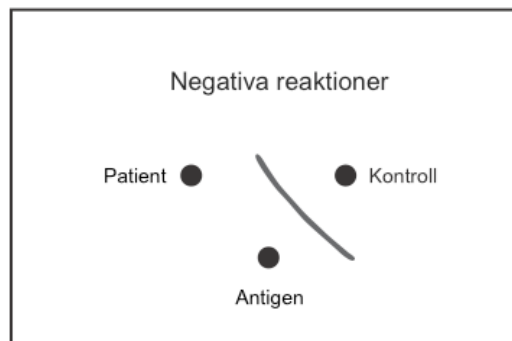
Precipitinlinjer som bildar en "utlöpare" mellan patient- och kontrollbrunnarna betyder att antikroppar i patient- och kontrollserumen reagerar med en identisk antigen, men patientserat innehåller också en antikropp som reagerar med en annan antigen, vilken inte reagerar med kontrollserat.

WARNING: Delvisa identitetsreaktioner är de reaktioner som är svårast att tolka. Ofta går kontrollprecipitinlinjen i en båge in i patientprecipitinlinjen vid kontaktpunkten. Studera precipitinlinjerna noggrant för att kontrollera att patientens precipitinlinje inte korsar kontrollens precipitinlinje.

Precipitinlinjer som bildar en förvrängd kontinuerlig linje mellan patient- och kontrollbrunnar betyder att varje serum reagerar med identiska nukleära antigener, men att patientserumet innehåller mer eller mindre antikroppar än kontrollserat.



Patientprover som uppvisar förvrängda identitetslinjer rapporteras som positiva med en specificitet som är identisk med kontrollens.

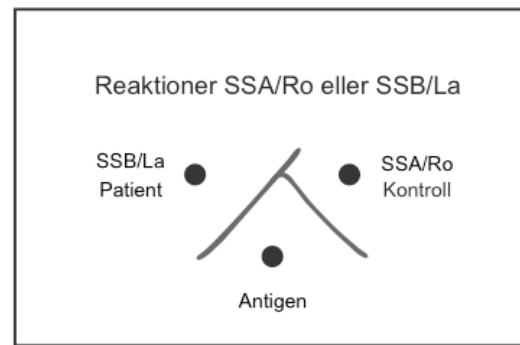
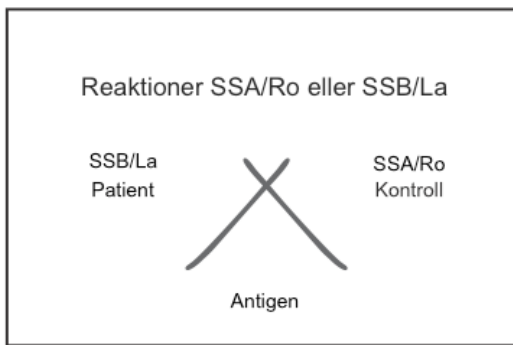


En precipitinlinje bildas endast med kontrollserumet. Patientprover som inte bildar precipitinlinjer rapporteras som negativa.

TEKNISK TOLKNING

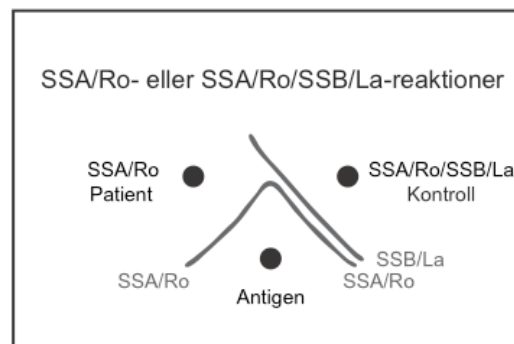
SSA/Ro eller SSB/La

Antikroppar mot SSA/Ro och SSB/La uppvisar i allmänhet korsande precipitinlinjer, vilket betyder bristande överensstämmelse. SSA/Ro-precipitinlinjer är vanligtvis smala och skarpa, medan SSB/La-precipitinlinjer kan verka bredare och mindre väldefinierade.



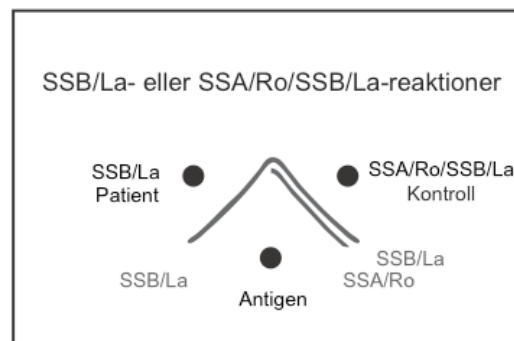
SSA/Ro eller SSA/Ro/SSB/La

Sera som är monospecifika för SSA/Ro-antikroppar särskiljs i allmänhet från sera som innehåller antikroppar mot både SSA/Ro och SSB/La genom att precipitinkaraktäristiken och reaktiviteten fastställs med kontrollsera. Sera med antikroppar enbart mot SSA/Ro bildar i allmänhet en smal, skarp precipitinlinje som är identisk med SSA/Ro-kontrollen. Sera med antikroppar mot både SSA/Ro och SSB/La uppvisar en smal precipitinlinje som är identisk med SSA/Ro-kontrollen och en bred precipitinlinje som är identisk med SSB/La-kontrollen. I vissa sera som är positiva för både SSA/Ro- och SSB/La-antikroppar kan det se ut som om de två precipitinlinjerna delvis smälter samman.



SSB/La eller SSA/Ro/SSB/La

Det kan vara svårt att differentiera sera som är monospecifikt för SSB/La-antikroppar från sera som innehåller SSA/Ro-/SSB/La-antikroppar, eftersom SSB/La-precipitinlinjen i allmänhet är bredare och mindre definierad än SSA/Ro-precipitinlinjen. För att bekräfta att ett serum innehåller både SSA/Ro- och SSB/La-antikroppar måste båda precipitinlinjerna vara klart synliga. I allmänhet observeras en bred precipitinlinje identisk med SSB/La-kontrollen och en smal precipitinlinje som är identisk med SSA/Ro-kontrollen. SSA/Ro-precipitinlinjen kan se ut att delvis smälta samman med SSB/La-precipitinet. Seriespädningar av sera kan förbättra differentieringen mellan de båda precipitinlinjerna.



Bestämning av antikroppnivå

Dubbla seriespädningar av patientsera kan användas för att semikvantitativt fastställa andelen specifika antikroppar i positiva sera. Bestämning av antikroppnivå underlättar också tolkning av reaktioner som äger rum i närheten av den nukleära antigenbrunnen vid en första screening på grund av överflödiga antikroppar. Rapportera antikroppnivån som en växelverkan av den sista spädning som uppvisar klara precipitinlinjer vad gäller identitet med kontrollsera.

BEGRÄNSNINGAR

1. Även om ett positivt resultat kan tyda på systemisk reumatisk sjukdom, bör detta inte betraktas diagnostiskt, utan snarare ses som en del av patientens totala sjukdomsprofil.
2. Immuno Concepts AUTO I.D.®-testsystem har optimerats för detektion av den majoritet av patienter som har autoantikroppar mot Sm, RNP, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Jo-1 och PCNA-antigener. Enstaka prover med mycket höga eller mycket låga antikroppnivåer kan ge mycket svaga eller falskt negativa resultat i olika immundiffusionssystem enligt Ouchterlony. Spädningar av prover med PBS eller koncentration av antikropparna genom att dubbla eller tredubbla fyllningen av patientbrunnarna kan förbättra detektionen av antikroppar i dessa prover.
3. Immuno Concepts AUTO I.D.®-nukleära antigen består av en blandning av autoantigener från däggdjur. Patientsera kan således uppvisa precipitinlinjer med antigener som inte uppvisar några identitetsreaktioner med de kontrollsera som ingår i detta testsystem. Sådana sera skall testas på nytt med kontrollsera mot andra antigenspecificiteter (se "Övriga tillgängliga komponenter").

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Autoantikroppars immunspezifitet mot nukleära antigener (data från referens 14)	
Antikroppar mot:	Sjukdomssamband:
Sm	SLE: 25-40%; markörantikropp
Nukleär RNP (U1-RNP)	MCTD: 95-100%; lägre frekvens i SLE, skivformig lupus, PSS
SSA/Ro	Sjögrens syndrom: 60-70%; SLE: 30-40%; neonatalt lupussyndrom: 100%
SSB/La	Sjögrens syndrom: 50-60%; SLE: 10-20%
PCNA	SLE: 10%; markörantikropp
Scl-70	PSS: 15-20%; markörantikropp
Jo-1	Polymyosit: 31%; markörantikropp
PM-Scl (PM-1)	Polymyosit/sklerodermia-överlappning: 64%

Förkortningar: SLE = systemisk lupus erytematosus, MCTD = blandad Bindvävssjukdom, PSS = progressiv systemisk skleros, Sm = Smith-antigen, PCNA = förökande cellnukleär antigen.

PRESTANDA

Detektion: Immuno Concepts SSA/Ro/SSB/La AUTO I.D.®-autoantikropptestsystem har testats på totalt 61 positiva och negativa patientsera som erhållits från kvalificerade referenslaboratorier (22). 96,7% överensstämmelse med alla testade sera erhöles. Åtta sera var positiva för SSB/La-antikroppar, ett serum var positivt för SSB/La-antikroppar och tre sera var positiva för SSA/Ro-antikroppar. 15 sera uppvisade "odefinierade precipitinlinjer" (UPL). Vid fortsatta analyser med Sm-/RNP AUTO I.D.® autoantikropptestsystem var tolv av dessa sera positiva för RNP-antikroppar, två sera var positiva för Sm-/RNP-antikroppar och ett serum positivt för Sm-antikroppar. 32 sera var negativa för påvisbara autoantikroppar mot nukleära antigener. De båda avvikande sera rapporterades ursprungligen som positiva för SSA/Ro- respektive SSA/Ro/SSB/La-antikroppar. Dessa sera testades vidare med två andra prov på marknaden och uppvisade oklara precipitinlinjer när de jämfördes med SSA/Ro-, SSB/La-, Sm- och U1-RNP-prototypkontroller (klara identitetslinjer eller icke-identitet kunde inte detekteras).

Precision: Sex sera positiva för SSA/Ro/SSB/La-antikroppar testades vid tre tillfällen i dubbla exemplar. I samtliga fallen uppvisade alla testresultaten identiska antikropsspecificiteter: Fem sera var enhetligt positiva för SSA/Ro- och SSB/La-antikroppar och ett serum var enhetligt positivt för SSB/La-antigener.

BIBLIOGRAFI

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., Fritzler, 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 Antiimmunoglobulin 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 Fritzler, 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. Fritzler, 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.

Kontakta Immuno Concepts innan du använder produkten om skyddsföpackningen är skadad.



Fabrikant



Auktoriserad Representant
europeiska unionen



Temperatur
begränsning



Innehåller tillräckligt för <n> test



Se instruktionerna



In vitro diagnostiska medicinapparat



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: technicalsupport@immunoconcepts.com

Cat 7000-I,

4.11.02.003.097-Sv

Rev 3.0 © Copyright 2014

AUTO-I.D.® TEST PROCEDUR

- 1. REKONSTITUTION AV NUKLEÄR ANTIGEN**

Rekonstituera ampullen med nukleärantigen genom att tillsätta 200 µl destillerat eller avjoniserat vatten. Låt den rekonstituerade ampullen stå i minst trettio minuter i rumstemperatur (18-25°C) innan den används för att försäkra dig om att antigenen har lösts upp helt och hållet. Snurra försiktigt före användning.

OBSERVERA: Rekonstituerad antigen kan se grumlig eller oklar ut. Förvara den rekonstituerade antigenen i 30 µl alikvoter vid -20°C eller lägre för att uppnå bästa resultat. Låt antigenen nå rumstemperatur före användning.
- 2. IORDNINGSTÄLLANDE AV AUTO I.D.® -PLATTA(OR)**

Låt plattan nå rumstemperatur (18-25°C) innan du öppnar foliepåsen. Avlägsna plattan försiktigt från foliepåsen. Kondensation på plattlockets insida kan avlägsnas med läskpapper eller luddfri pappershandduk. Undvik att röra agarosen.
- 3. IORDNINGSTÄLLANDE AV AUTO I.D.® ARBETSBLAD**

Registrera plattnumret och kontrollspecificiteten efter brunnnummer såväl som patientidentifikationen efter brunnnummer för varje prov som testas. Registrera även lotnumret för det AUTO I.D.®-autoantikropptestsystem som används på AUTO I.D.®-arbetsbladet.
- 4. SPÄDNING AV PATIENTPROV (ALTERNATIVT)**

Spädningar av patientserumprov är önskvärda för att bestämma antikroppnivå, eller för att kontrollera om ett prozonfenomen (för många antikroppar) har observerats. Framställ spädningar av patientprov med fosfatbuffrad saltlösning (PBS). Späd patientprov 1:2 genom att tillsätta 100 µl utspädd PBS-patientprov. Ställ i ordning dubbla seriespädningar av serumprovet (t ex 1:2, 1:4, 1:8... 1:64 med PBS) för att fortsätta bestämningen av antikroppnivå.
- 5. Fyllning av brunnar**

Placera 20 µl av nukleärantigen i AUTO I.D.®-plattans centrumbrunn. Placera 20 µl patientprov eller kontrollserum i nummerade brunnar genom att följa ett av de format som rekommenderas under "Testmetoder". Byt ut lock.
- 6. DUBBEL Fyllning av patientprov (ALTERNATIVT)**

Enstaka prov med mycket låga antikroppnivåer kan ge mycket svaga eller falsk-negativa resultat i vilket immunodiffusionssystem enligt Ouchterlony som helst. En antikroppkoncentration genom att dubblera eller tredubbla fyllningen av patientbrunnar kan underlätta upptäckt i dessa prov. Proven kan koncentreras genom att återfylla patientbrunnen med ytterligare 20 µl serum efter cirka 30 minuter.
- 7. Inkubation av plattor**

Placera de fyllda plattorna försiktigt i en liten låda för att skydda dem från luftströmmar och odla i rumstemperatur (18-25°C) under 18-24 timmar. Odlar inte vid 37°C.

VARNING: Luftströmmar och abrupta ändringar i lufttemperaturen kan leda till att artefaktprecipitinlinjer bildas. Odlar plattorna under en kontrollerad temperatur för att uppnå bästa resultat.
- 8. Läsning av plattor**

Betrakta plattor på en lätt låda med ett förstoringsglas efter 18-24 timmar. Se avsnittet "Uttydning" beträffande rekommenderade riktlinjer för läsning av precipitinlinjer.

OBSERVERA: För de flesta sera bör resultat bli synliga inom 18 timmar. Vad gäller vissa lågt titrerade sera kan tydliga precipitinlinjer ses vid 24 och 48 timmar.

TEKNISK HJÄLP: +1-916-363-2649

eller e-mail: technicalsupport@immunoconcepts.com

