



## **AUTO I.D.<sup>®</sup> Sm/RNP-AUTOANTIKÖRPERTESTSYSTEM** **Nur zur In vitro-Diagnostik** **Für Professionellen Gebrauch**

*BEABSICHTIGTER VERWENDUNGSZWECK: Dies ist ein Ouchterlonie-Immundiffusionstestsystem zum Nachweis von Autoantikörpern gegen Sm (Smith), RNP (U1-Ribonukleoprotein) und andere Autoantigene in humanem Serum. Der Test dient als Hilfestellung bei der Diagnose von systemischem Lupus erythematoses, gemischter Bindegewebskrankheit 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).

Das Sm-Antigen wurde 1966 von Tan und Kunkel als kochsalzlösliches, nicht-histonisches Glykoprotein identifiziert, das für seine Antigenität nicht DNA- oder RNA-abhängig ist (15). Antikörper gegen Sm gelten wegen ihrer ausgeprägten Spezifität für SLE als spezifischer serologischer Marker. Sie treten bei bis zu 40 % der SLE-Patienten auf und werden mit aktiver Nierenkrankheit und Zerebritis (16-19) in Verbindung gebracht.

Antikörper gegen Sm werden häufig zusammen mit U1-RNP-Antikörpern im Serum von SLE-Patienten nachgewiesen (20, 21). Anders als Antikörper gegen Sm sind Antikörper gegen RNP nicht als spezifische serologische Marker anzusehen, da sie bei Patienten mit den verschiedensten rheumatischen Erkrankungen, einschließlich SLE, Sklerodermie, Sjögren-Syndrom und rheumatoider Arthritis, auftreten. Hochtitrierte RNP-Antikörper allein werden jedoch überwiegend mit gemischter Bindegewebskrankheit (MCTD) in Verbindung gebracht. Bei Patienten mit MCTD tritt typischerweise eine Kombination der klinischen Merkmale auf, wie sie für SLE, Sklerodermie und Polymyositis charakteristisch sind. Diese Patienten zeigen häufig auch ein gutes Ansprechen auf die Behandlung mit Kortikosteroiden und im Vergleich zu SLE-Patienten eine geringere Häufigkeit von Nierenerkrankungen (21, 22).

### **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 Sm/RNP AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörpertestsystem von Immuno Concepts zum Nachweis von Antikörpern gegen nukleäre Antigene vom Typ Smith und U1-Ribonukleoprotein arbeitet mit der Ouchterlonie-Immundiffusionstechnik.

Der Test nutzt ein spezielles nukleäres 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.

**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. Dieses Serum zeigt ausgeprägte Präzipitatlinien, die mit den CDC-Referenzseren zu diesen Antigenen identisch sind.

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

**SSA/Ro-Positivkontrollserum** **CONTROL|+**: Katalognummer 7001 (0,5 ml). Gebrauchsfertiges Fläschchen mit Human-Antikörpern, die mit nukleären Antigenen vom Typ SSA/Ro reagieren.

**SSA/Ro/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.

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

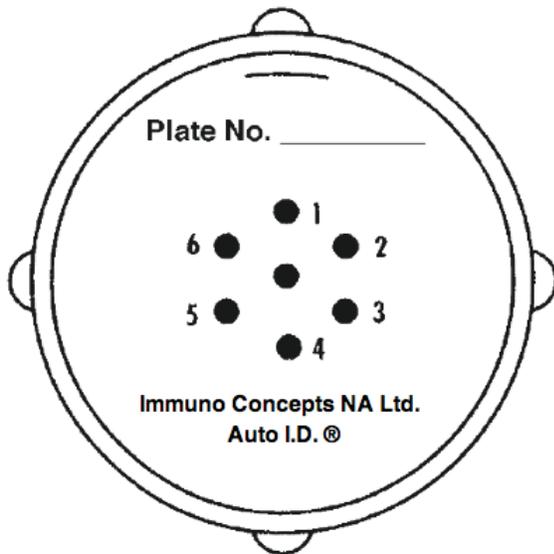
## SICHERHEITSHINWEISE

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 bei Zimmertemperatur stehen lassen, um sicherzustellen, dass das Antigen vollständig gelöst ist.
6. Eine Substitution von Komponenten aus anderen Immuno Concepts AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörpertestsystemen 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 werden erzielt, 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 *In vitro*-Diagnostik bestimmt.

## TESTMETHODEN

AUTO I.D.<sup>®</sup> 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 (RNP)
- Vertiefung 3 - Patient 2
- Vertiefung 4 - gemischtes Antikörperkontrollserum (Sm/RNP)
- Vertiefung 5 - Patient 3
- Vertiefung 6 - gemischtes Antikörperkontrollserum (Sm/RNP)
- 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 (Sm/RNP)
- Mittlere Vertiefung - nukleäres Antigen

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

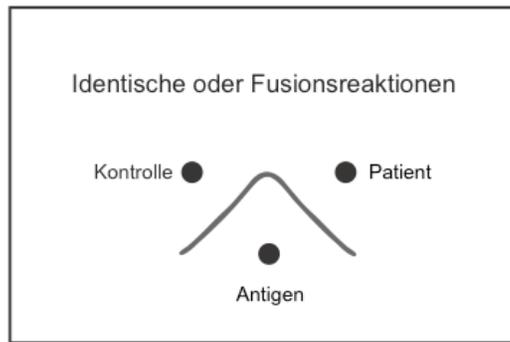
## PROBENGEWINNUNG

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

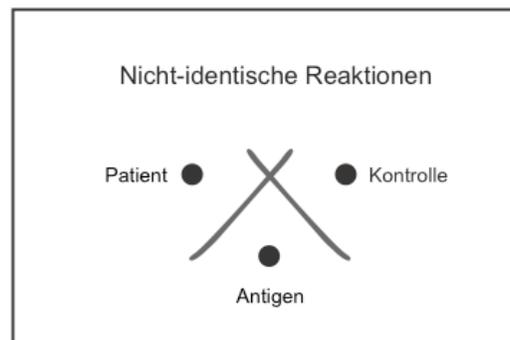
Die korrekte Interpretation der Patientenergebnisse hängt von der klaren Auflösung der Präzipitatlinie zwischen den Vertiefungen mit Patientenserum und dem nukleären Antigen ab. Die Bestimmung der Antikörperspezifität des Patienten hängt von der korrekten Interpretation der Präzipitatlinien zwischen 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.



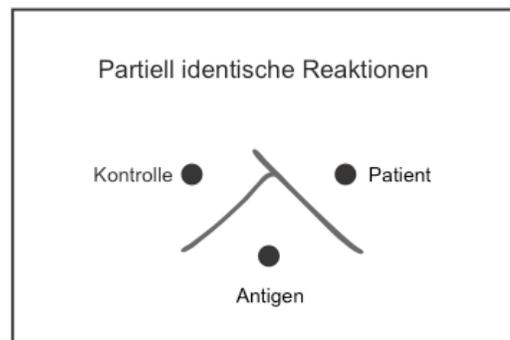
Präzipitatlinien, die eine kontinuierliche Linie zwischen Patienten- und Kontrollserum bilden, sind ein Zeichen dafür, dass die Antikörper in den Seren mit identischen nukleären Antigenen reagieren.

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



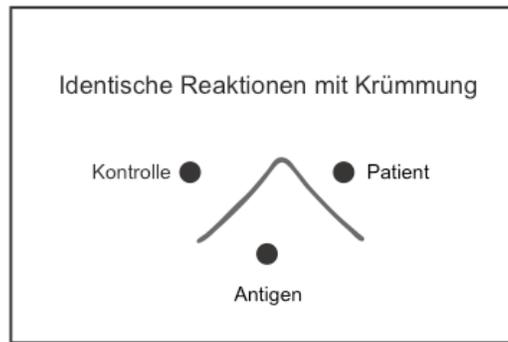
Präzipitatlinien, die sich zwischen Patienten- und Kontrollserum kreuzen, sind ein Zeichen dafür, dass die Antikörper in den Seren mit unterschiedlichen nukleären Antigenen reagieren.

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“).



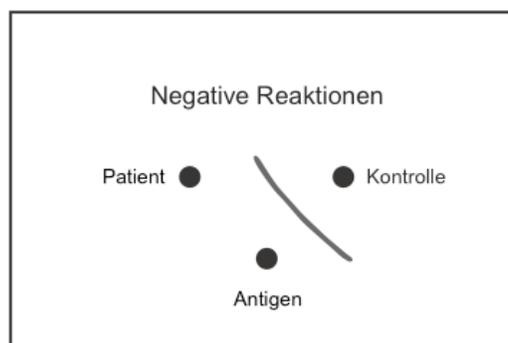
Präzipitatlinien, die zwischen Patienten- und Kontrollvertiefung einen „Sporn“ bilden, sind ein Zeichen dafür, dass Antikörper in Patienten- und Kontrollserum mit einem identischen Antigen reagieren, dass jedoch das Patientenserum auch einen Antikörper enthält, der mit einem unterschiedlichen Antigen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

**ACHTUNG:** Partiell 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. Siehe den Abschnitt „Technische Interpretation der Ergebnisse“ für Inhibierungsreaktionen, die zur Bildung eines „Sporns“ zwischen benachbarten Sm- und RNP-Antikörper-Positivseren führen können.



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

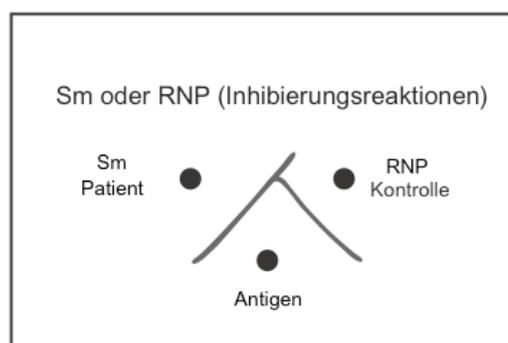
Patientenproben, die gekrümmte Präzipitatlinien aufweisen, sind als positiv mit der Spezifität der Kontrollprobe anzugeben.



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

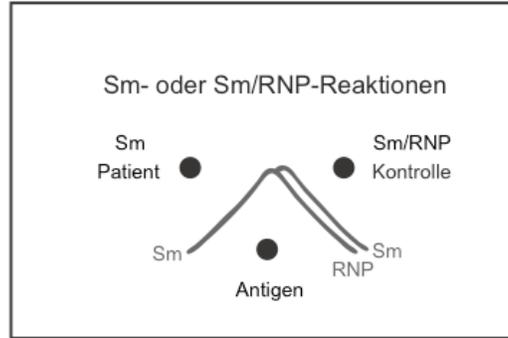
## TECHNISCHE INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

### Sm oder RNP (Inhibierungsreaktionen)

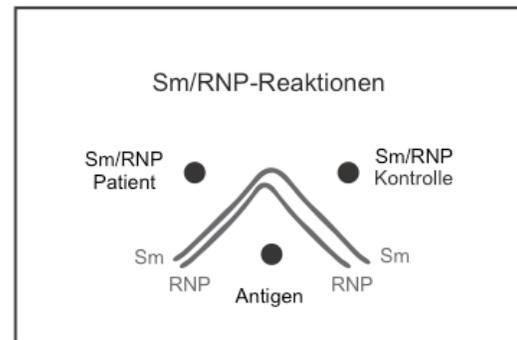
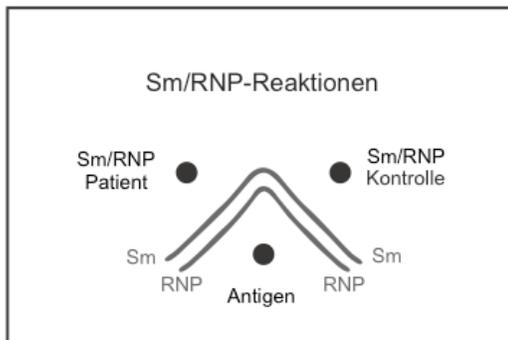


Die Differenzierung zwischen einem Sm-Antikörper-Positivserum und einem RNP-Antikörper-Positivserum in benachbarten Vertiefungen wird nicht in jedem Fall durch eine nicht-identische Reaktion nachgewiesen. Bei Sm-Antikörper-Positivseren, die in unmittelbarer Nachbarschaft zu RNP-Antikörper-Positivkontrollseren liegen, zeigt sich häufig ein „Sporn“ als Reaktion partieller Identität mit RNP. Diese Reaktion muss korrekterweise als Inhibierungsreaktion (23) gewertet werden. Eine Reaktion auf Nicht-Identität tritt nicht ein, da der Antikörper gegen RNP am Kreuzen der Sm-Präzipitatlinie gehindert wird, da alle RNP-Antigenpartikel mit dem Sm-Antigen komplex verbunden werden. Das Sm-Antigen kann auch als freies oder naszierendes Molekül vorhanden sein, welches für die Bildung des „Sporns“ verantwortlich ist.

## Sm oder Sm/RNP

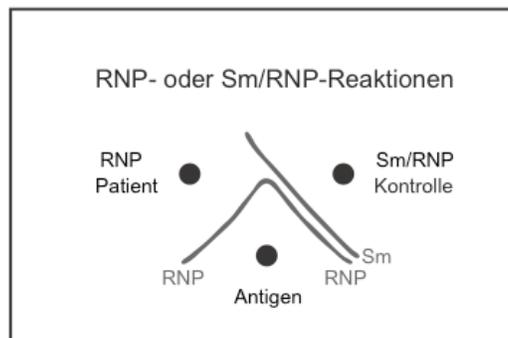


Die Unterscheidung zwischen benachbarten Sm-Antikörper-Positivseren und Sm/RNP-Antikörper-Positivkontrollseren kann unter Umständen schwierig sein, da Sm-Antigenpartikel sowohl als freie Partikel als auch im Komplexverbund mit RNP-Antigen auftreten. Monospezifische Sm-Antikörper-Positivseren treten dagegen selten auf. Wenn doch, dann ist häufig eine ausgeprägte Präzipitatlinie partieller Identität mit RNP und eine Präzipitatlinie für Identität mit Sm zu erkennen.



Häufiger enthalten Sm-Antikörper-Positivseren auch RNP-Antikörper. Bei diesen Seren sind unter Umständen zwei sich entsprechende Identitätslinien zwischen den Sm/RNP-Kontrollseren zu erkennen. Sm/RNP-Antikörper-Positivseren geben sich noch häufiger als breite Präzipitatlinie zu erkennen, wobei beide Linien nicht klar aufgelöst sind. Eine höhere Verdünnung des Serums liefert unter Umständen eine bessere Auflösung.

## RNP oder Sm/RNP



Monospezifische RNP-Antikörper-Positivseren zeigen eine deutliche Präzipitatlinie für Identität mit RNP, wenn sie unmittelbar neben Sm/RNP-Antikörper-Positivkontrollseren liegen.

## Titrierung

Eine zweifache Reihenverdünnung der Patientenseren 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-Immundiffusionstestsystem zu falsch-negativen Ergebnissen 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 erzeugen, die keine identischen Reaktionen mit den in diesem Testsystem enthaltenen Kontrollseren darstellen. Derartige Seren sollten mit Kontrollseren für andere Antigen-Spezifitäten noch einmal getestet werden (siehe „Optional erhältliche Komponenten“).

## ERWARTETE WERTE

Immunspezifität 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 Sm/RNP AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörpertestsystem von Immuno Concepts wurde mit insgesamt 61 negativen und positiven Patientenserum getestet, die von qualifizierten Referenzlabors (24) bezogen wurden. Bei 96,7% der getesteten Seren gab es eine Übereinstimmung. Zwölf Seren waren positiv für RNP-Antikörper, zwei Seren waren positiv für Sm/RNP-Antikörper, ein Serum war positiv für Sm-Antikörper. Zwölf Seren wiesen „undefinierte Präzipitatlinien“ auf. In weiteren Tests mit dem SSA/Ro/SSB/La AUTO I.D.<sup>®</sup> Autoantikörpertestsystem von Immuno Concepts erwiesen sich acht Seren als positiv für SSB-Antikörper, ein Serum als positiv für SSA/Ro und SSB/La-Antikörper und drei Seren als positiv für SSA/Ro-Antikörper. 32 Seren waren negativ für alle nachweisbaren Autoantikörper gegen nukleäre Antigene. Die beiden Seren mit Diskrepanzen waren ursprünglich als positiv für Sm bzw. Sm/RNP-Antikörper eingestuft worden. Diese Seren wurden mit einem anderen, im Handel erhältlichen Testsystem dreifach getestet und als negativ für alle nachweisbaren Autoantikörper gegen nukleäre Antigene befunden.

**Testgenauigkeit:** Sechs Seren, die positiv für Sm oder RNP-Antikörper waren, wurden bei drei Gelegenheiten doppelt getestet. In allen Fällen zeigten sich bei allen Testergebnissen identische Antikörper-Spezifitäten: Drei Seren waren einheitlich positiv für Sm und RNP-Antikörper, zwei Seren waren einheitlich positiv für RNP-Antikörper, ein Serum war einheitlich positiv für RNP-Antikörper mit einer anderen, undefinierten Präzipitatlinie.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Douvas, A.S., Achten, M., and Tan, E.M. Identification of a Nuclear Protein (Sci-70) as a Unique Target of Human Antinuclear Antibodies in Scleroderma. *J. Biol. Chem.* 254:10514-10522, 1979.
2. Moroi, Y., Peebles, C., Fritzier, M.J., et al. Autoantibodies to Centromere (Kinetochores) 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, May, L.M., et al. Association of Antibodies to Ribonucleoprotein and Sm Antigens with mixed Connective Tissue Disease, Systemic Lupus Erythematosus, and Other Rheumatic Diseases. *N. Engl. J. Med.* 295:1149-1154, 1976.
6. Alspaugh, M.A., and Tan, E.M. Antibodies to Cellular Antigens in Sjögren's Syndrome. *J. Clin. Invest.* 55:1067-1078, 1975.
7. Alspaugh, M.A., Talal, N., and 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, J.F., and Sharp, G.C. Antinuclear Antibody with Distinct Specificity for Polymyositis. *J. Clin. Invest.* 59:176-178, 1977.
9. Nishikai, M. and Reichlin, M. Purification and Characterization of a Nuclear Non-histone Basic Protein (Mi-1) which reacts with Anti-immunoglobulin Sera and the Sera of Patients with Dermatomyositis. *Mol. Immunol.* 17: 1129-1141, 1980.
10. Alspaugh, M.A., and Tan, E.M. Serum Antibody in Rheumatoid Arthritis Reactive with a Cell-Associated Antigen. Demonstration by Precipitation and Immunofluorescence. *Arthritis Rheum.* 19:711-719, 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. and Tan, E.M. Antinuclear Antibodies and the Connective Tissue Diseases, p. 207-247. In Cohen, A.S. (ed.), *Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases* (Third Edition). Grune and Stratton, Orlando, FL, 1985.
15. Tan, E.M. and Kunkel, H.G. Characteristics of a Soluble Nuclear Antigen Precipitating with Sera of Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J. Immunol.* 96:464-471, 1966.
16. Winfield, J.B., Brunner, C.M., and Koffler, D. Serological Studies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Central Nervous System Dysfunction. *Arthritis Rheum.* 21:289-294, 1978.
17. Nakamura, R.M. and Tan, E.M. Autoantibodies to Nonhistone Nuclear Antigens and Their Clinical Significance. *Hum. Pathol.* 14:392-400, 1983.
18. Hamburger, M., Hodes, S., and Barland, P. The Incidence and Clinical Significance of Antibodies to Extractable Nuclear Antigens. *Am. J. Med. Sci.* 273:21-28, 1977.
19. Lerner, M.R. and Steitz, J.A. Antibodies to Small Nuclear RNAs Complexed with Proteins are Produced by Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:5495-5499, 1979.
20. Conner, G.E., Nelson, D., Wisniewski, R., et al. Protein Antigens of the RNA-protein Complexes Detected by Anti-Sm and Anti-RNP Antibodies Found in Serum of Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Related Disorders. *J. Exp. Med.* 156:1475-1485, 1982.
21. Notman, D.D., Kurata, N., and Tan, E.M. Profiles of Antinuclear Antibodies in Systemic Rheumatic Diseases. *Ann. Intern. Med.* 83:464-469, 1975.
22. Tan, E.M. Antinuclear Antibodies in Diagnosis and Management. *Hosp. Pract.* 18:78-84, 1983.
23. Nilsson, L.-Å. Double Diffusion-in-Gel. *Scand. J. Immunol.* 17(S10):57-68, 1983.
24. 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 6000-I,

4.11.02.003.096-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 flusenfreien Papierhandtuch entfernt werden. Die Agarose möglichst nicht berühren.
- 3. DAS AUTO I.D.<sup>®</sup> ARBEITSBLATT AUSFÜLLEN**  
Plattenummer, 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 Ergebnissen 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)