



AUTO I.D.[®] Sm/RNP AUTOANTIKROPPTESTSYSTEM **För in vitro diagnostisk användning** **För yrkesmässigt bruk**

AVSEDD ANVÄNDNING: Detta är immunodiffusionssystem enligt Ouchterlony för detektion av antikroppar mot SM (Smith), RNP (U1-ribonukleoprotein) och andra autoantigener i humanserum. Resultaten från detta testsystem kan användas som ett hjälpmedel vid diagnostisering av systemisk lupus erytematosus, blandad bindvävssjukdom 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 i systemisk skleros (1, 2), blandad bindvävssjukdom (3-5), Sjögrens syndrom (6, 7), polymyosit (8), dermatomyosit (9), systemisk lupus erytematosus (5) och reumatoid artrit (10). Några av de mer vanliga antikroppspecifiteterna 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-testet (ANA) har använts som ett filter för dessa antikroppar, men ANA anger inte antikroppens specificitet, och antikroppar mot vissa ENA uppvisar inte positivt ANA-test (12, 13). Därför rekommenderas denna andra bekräftande analys av antikroppar till ENA (14).

Sm-antigenen identifierades 1966 av Tan och Kunkel som ett i saltlösning lösligt icke-histonglykoprotein som inte är beroende av DNA eller RNA för sin antigena potential (15). Antikroppar mot Sm betraktas som en specifik serologisk markör på grund av sin höga grad av specificitet för SLE. De har noterats hos upp till 40% av SLE-patienterna och associerats med aktiv njursjukdom och cerebrit (16-19).

Antikroppar mot Sm påträffas ofta i samband med U1-RNP-antikroppar i sera hos patienter med SLE (20, 21). Till skillnad från antikroppar mot Sm betraktas antikroppar mot RNP inte som en specifik serologisk markör, eftersom de påträffas hos patienter med olika reumatiska sjukdomar, t ex SLE, sklerodermia, Sjögrens syndrom och reumatoid artrit. Emellertid associeras enbart RNP-antikroppar med hög antikroppnivå med ett överlappande syndrom som kallas blandad bindvävssjukdom eller MCTD. Patienter med MCTD visar karaktäristiskt en kombination av sjukdomssymptom liknande de som påträffas vid SLE, sklerodermia och polymyosit. Dessa patienter reagerar också ofta på kortikosteroidbehandling och har färre njursjukdomar jämfört med patienter med SLE (21, 22).

TESTPRINCIP

Det finns ett antal analyser för detektion av specifika antikroppar mot nukleära antigener. Följande metoder används mest: Ouchterlony immundiffusion, passiv hemagglutination, kontraimmunoelktrofores och 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 Sm och RNP AUTO I.D.[®]-autoantikropptestsystem för detektion av antikroppar mot Smith- och U1-nukleära antigener använder immundiffusionsmetoden enligt Ouchterlony. Testet använder sig av Immuno Concepts exklusiva framställning av nukleära antigener, vilket omfattar ett flertal nukleära antigener och som reagerar med antikroppar påträffade hos patienter med systemisk reumatisk sjukdom.

Nukleärantigenen är placerad i en central brunn i agarosplattan med kontrollsera och patientserumprov i de omgivande sex provbrunnarna. Efter inkubation i rumstemperatur bildas en fällningslinje i det agarosgel där nukleärantigenen breder ut sig och stöter på den homologa antikroppen. Sera testas för antigen/antikroppspecifitet genom att fällningslinjerna studeras med avseende på överensstämmelse eller delvis överensstämmelse mellan patientprov och kontrollsera. Sera som inte skapar fällningslinjer betraktas som negativa. Antikroppar med olika specifiteter kan skapa icke överensstämmande linjer jämfört med de kontrollsera som används i analysen.

SYSTEMKOMPONENTER - MATERIAL SOM INGÅR

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 ventilerat 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.

Sm/RNP-positivt kontrollserum **CONTROL +:** Kat. nr 6002 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva med Smith (Sm) och U1-ribonukleoprotein-(RNP)-nukleära antigener. Detta serum uppvisar starka fällningslinjer som överensstämmer med CDC-referensserumet för dessa antigener.

RNP-positivt kontrollserum **CONTROL +:** Kat. nr 6001 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva med U1-ribonukleoprotein-(RNP)-nukleär antigen. Detta serum uppvisar en enda stark fällningslinje som överensstämmer med CDC-referensserumet 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 förstöringsglas
Engångshandskar

ÖVRIGA TILLGÄNGLIGA KOMPONENTER

Om positivt odefinierade resultat erhålls för precipitinlinjerna kan antikropps specificiteten fastställas med hjälp av ytterligare kontrollsera. Upprepa testet med lämpliga bruksfärdiga kontrollseraplacerade i de brunnar som angränsar till patientprovet och tolka resultatet genom att följa de riktlinjer som står under avsnittet "Allmän tolkning".

SSA/Ro-positivt kontrollserum **CONTROL|+**: Kat. nr 7001 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva med SSA/Ro-nukleär antigen.

SSA/Ro/SSB/La-positivt kontrollserum **CONTROL|+**: Kat. nr 7002 (0,5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar som är reaktiva med SSA/Ro och SSB/La-nukleära antigener.

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

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

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

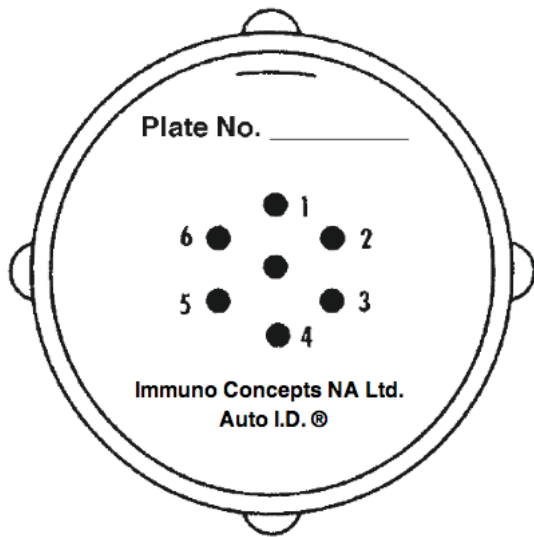
PCNA-positivt kontrollserum **CONTROL|+**: Kat. nr 6006 (0.5 ml). Bruksfärdig ampull innehållande humana antikroppar reaktiva med förökande cellnukleär antigen (PCNA).

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Allt humant källmaterial 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 yantigen (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.
2. Natriumazid (0,09%) används som konserveringsmedel. När reagenser 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.
3. Frys inte AUTO I.D.[®]-plattorna. Värm alltid plattorna till rumstemperatur före användning för att säkerställa konsekventa resultat.
4. Undvik upprepad frysning/upptining av rekonstituerade nukleära antigener.
5. Låt alltid nyrekonstituerade nukleära antigener stå minst 30 minuter i rumstemperatur före användning för att förvissa dig om att antigenen har lösts upp helt och hållet.
6. Det är tillåtet att byta ut komponenter mot andra AUTO I.D.[®]-autoantikropptestsystem från Immuno Concepts. Om du byter ut komponenter mot komponenter från andra tillverkare kan detta ge motsägande resultat.
7. Abrupta ändringar i lufttemperaturen kan leda till att artefaktprecipitinlinjer bildas. Odlä plattorna i kontrollerad temperatur och långt ifrån luftströmmar för att uppnå bästa resultat. Odlä inte vid 37°C.
8. Vissa sera kan påvisa 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.
9. Vissa patientsera som innehåller fosfolipider kan bilda breda band av fällningar som omsluter hela patientbrunnen. Detta skall inte tolkas som en positiv reaktion.
10. 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 (RNP)
 Brunn 3 - Patient 2
 Brunn 4 - Blandad antikroppkontroll (Sm/RNP)
 Brunn 5 - Patient 3
 Brunn 6 - Blandad antikroppkontroll (Sm/RNP)
 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 (Sm/RNP)
 Centrumbrunn - Nukleär antigen

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

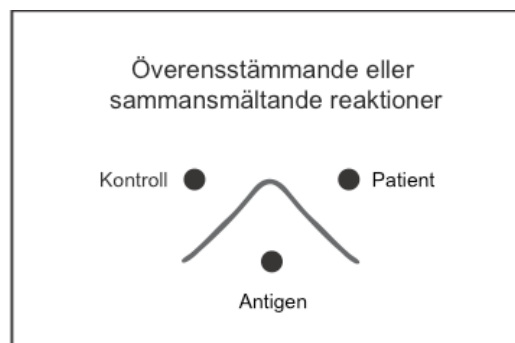
PROVTAGNING

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

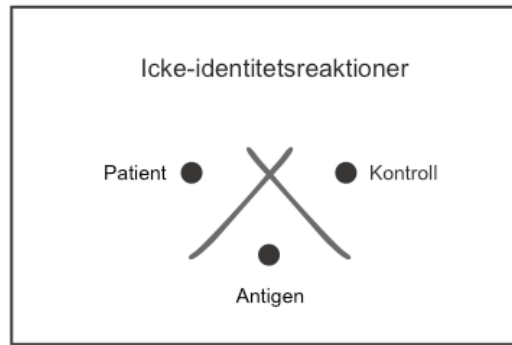
Korrekt tolkning av patientresultat beror på hur klar upplösningen av precipitinlinjen är mellan patientserum och nukleära antigenbrunnar. Fastställandet av patientantikroppspecificiteten beror på om precipitinlinjerna mellan patientserum och angränsande kontrollbrunnar har tolkats rätt.

Följande definitioner är avsedda som grundläggande riktlinjer för tolkning av reaktionerna mellan patientsera och kontrollsera.



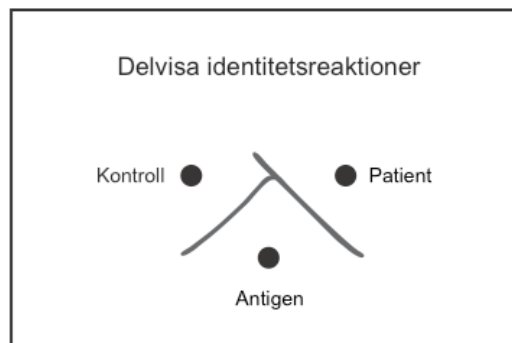
Precipitinlinjer som bildar en kontinuerlig linje mellan patientserum och kontrollserum betyder att antikroppar i varje serum reagerar med identiska nukleära antigen.

Patientprov som uppvisar överensstämmande precipitinlinjer rapporteras som positiva med en antikroppspecificitet som är identisk med kontrollens.



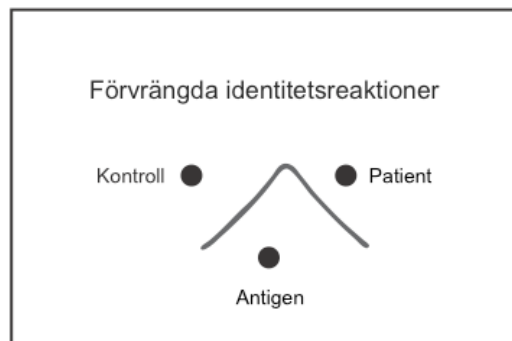
Precipitinlinjer som går mellan patient- och kontrollsera betyder att antikroppar i varje serum reagerar med olika nukleära antigener.

Prover som uppvisar icke överensstämmande precipitinlinjer rapporteras som positiva med "odefinierad precipitinlinje" (UPL)-reaktivitet. Fortsatt testning rekommenderas med andra kontroller för att fastställa antikroppspecifitet (se "Övriga tillgängliga komponenter").



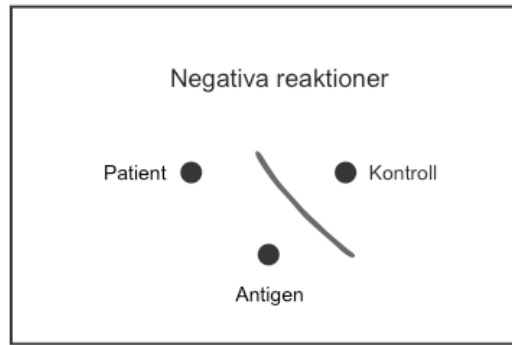
Precipitinlinjer som bildar en "utlöpare" mellan patient- och kontrollbrunnar betyder att antikropparna i patient- och kontrollserumen reagerar med en identisk antigen, men att patientserat dessutom innehåller en antikropp som reagerar med en annan antigen, vilken inte reagerar med kontrollserat.

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. Se avsnittet "Teknisk tolkning" för att få information om vilka hämmande reaktioner som kan ge upphov till en "utlöparlik" utformning mellan angränsande positiva sera i Sm- och RNP-antikroppen.



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

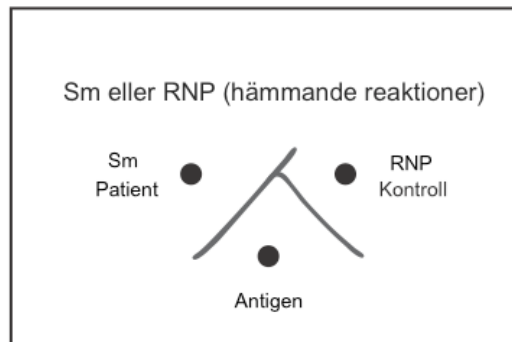
Patientprover som uppvisar förvrängda identitetslinjer rapporteras som positiva med en specificitet som är identisk med kontrollens.



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

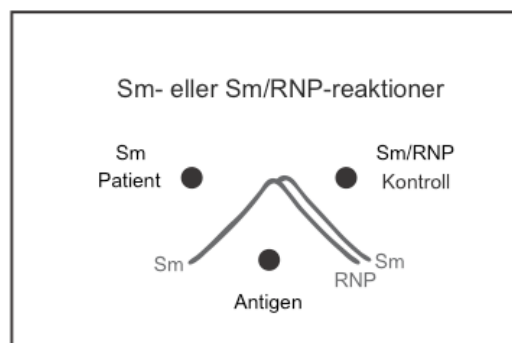
TEKNISK TOLKNING

Sm eller RNP (hämmande reaktioner)

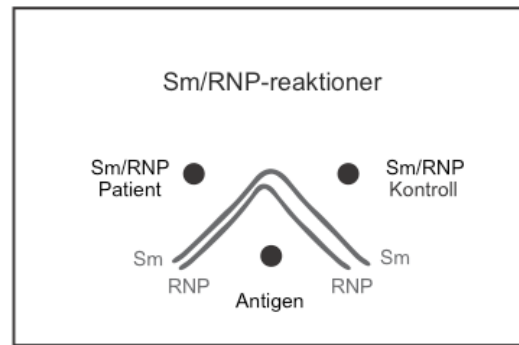
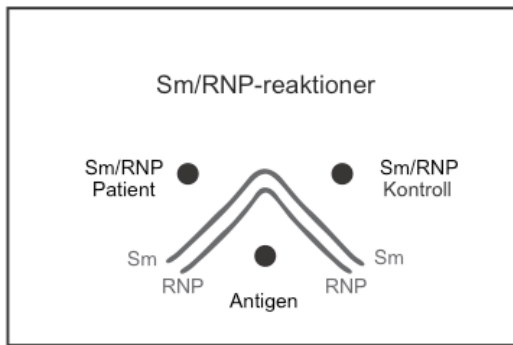


Differentiering mellan ett positivt serum i Sm-antikroppen och ett positivt serum i RNP-antikroppen i angränsande brunnar anges inte alltid genom en icke-identitetsreaktion. Sm-antikropps-positiva sera som angränsar till RNP-antikropps-positiva kontrollsera uppvisar ofta en "utlöpar-reaktion" med delvis identitet med RNP. Denna reaktion tolkas mer korrekt som en hämmande reaktion (23). En icke-överensstämmande reaktion uppkommer inte, eftersom antikroppen till RNP hämmas från att korsa Sm-precipitinlinjen, då alla RNP-antigenpartiklar är sammanbundna med SM-antigenen. Sm-antigenen kan även förekomma som en fri eller begynnande molekyl som står för produktionen av "utlöparreaktionen".

Sm eller Sm/RNP

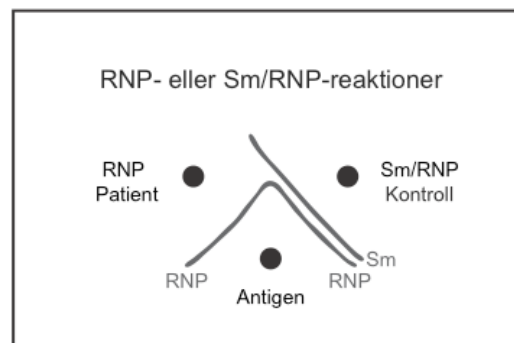


Det kan vara svårt att skilja mellan angränsande positiva sera i Sm-antikroppen och positiva kontrollsera i Sm/RNP-antikroppen, eftersom Sm-antigenpartiklar förekommer såväl som fria partiklar som sammanbundna med RNP-antigen. Monospecifika positiva sera i Sm-antikroppen är sällsynta. När dessa påträffas uppvisar de emellertid ofta en skarp precipitinlinje av delvis RNP-identitet och en precipitinlinje av Sm-identitet.



Det är mer vanligt att positiva sera i Sm-antikroppen även innehåller RNP-antikroppar. Dessa sera kan ange två motsvarande identitetslinjer mellan Sm/RNP-kontroller. Det är mer vanligt att positiva sera i Sm/RNP-antikroppen kan synas som en bred precipitinlinje, i vilken de två linjerna inte är klart upplösta. Högre spädning av serum kan ge bättre upplösning.

RNP eller Sm/RNP



Monospecifika positiva sera i RNP-antikroppen uppvisar en klar precipitinlinje som är identisk med RNP, när denna angränsar till Sm/RNP-antikroppens positiva kontrollsera.

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 senaste spädning som visar klara precipitinlinjer som överensstämmer med kontrollsera.

BEGRÄNSNINGAR

1. Även om ett positivt resultat kan tyda på en systemisk reumatisk sjukdom, bör detta inte betraktas diagnostiskt, utan snarare ses som en del av en patients totala sjukdomsprofil.
2. Immuno Concepts' AUTO I.D.[®]-testsysteem har optimerats för att upptäcka den majoritet av patienter som har autoantikroppar till Sm, RNP, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Jo-1 och PCNA-antigener. Enstaka prov med mycket höga eller mycket låga antikroppnivåer kan ge mycket svaga eller falsk-negativa resultat i olika immunodiffusionssystem enligt Ouchterlony. Spädningar av prov i PBS eller antikroppkoncentration genom att dubbla eller tredubbla fyllningen av patientbrunnar kan förbättra upptäckten av antikroppar i dessa prov.
3. Immuno Concepts' AUTO I.D.[®]-nukleära antigen består av en blandning av autoantigener i däggdjur. Patientsera kan visa på precipitinlinjer med antigenen som inte visar några identitetsreaktioner med de kontrollsera som ingår i detta testsystem. Sådana sera skall testas på nytt med kontrollsera till andra antigenspecificiteter (se "tillhörande 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 Sm/RNP AUTO I.D.[®]-autoantikropptestsystem har testats på totalt 61 positiva och negativa patientsera som erhållits från kvalificerade referenslaboratorier (24). 96,7% överensstämmelse med alla sera testade erhöles. Tolv sera var positiva för RNP-antikroppar, två sera var positiva för Sm/RNP-antikroppar och ett serum var positivt för Sm-antikroppar. Tolv sera uppvisade "odefinierade precipitinlinjer" (UPL). Ytterligare analys med Immuno Concepts' SSA/SSB AUTO I.D.[®]-autoantikropptestsystem visade att åtta sera positiva i fråga om SSB/La-antikroppar, ett serum positivt i fråga om SSA/Ro- och SSB/La-antikroppar och tre sera positiva i fråga om SSA/Ro-antikroppar. Trettiofyra sera var negativa i fråga om påvisbara autoantikroppar till nukleära antigener. De två avvikande serummen rapporterades ursprungligen positiva i fråga om respektive Sm- och Sm/RNP-antikroppar. Dessa sera testades ytterligare i tredubbla exemplar på ett annat test vanligt på marknaden och påträffades negativa i fråga om påvisbara autoantikroppar till nukleära antigener.

Precision: Sex sera positiva för Sm- eller RNP-antikroppar testades vid tre tillfällen i dubbla exemplar. I alla fallen visade alla testresultat på identiska antikropsspecificiteter. Tre sera var enhetligt positiva i fråga om Sm- och RNP-antikroppar, två sera var enhetligt positiva i fråga om RNP-antikroppar och ett serum var enhetligt positivt i fråga om RNP-antikroppar med en annan odefinierad precipitinlinje.

BIBLIOGRAFI

- 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.
- Moroi, Y., Peebles, C., Fritzler, M.J., et al. Autoantibodies to Centromere (Kinetochores) in Scleroderma Sera. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:1627-1631, 1980.
- Cohen, M.L., Dawkins, B., Dawkins, R.L., et al. Clinical Significance of Antibodies to Ribonucleoprotein. Ann. Rheum. Dis. 38:74-78, 1979.
- 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.
- 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 Diseases. N. Engl. J. Med. 295:1149-1154, 1976.
- Alspaugh, M.A., and Tan, E.M. Antibodies to Cellular Antigens in Sjögren's Syndrome. J. Clin. Invest. 55:1067-1078, 1975.
- 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.
- Wolfe, J.F., Adelstein, J.F., and Sharp, G.C. Antinuclear Antibody with Distinct Specificity for Polymyositis. J. Clin. Invest. 59:176-178, 1977.
- 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.
- 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.
- von Mühlen, C.A. and Tan, E.M. Autoantibodies in the Diagnosis of Systemic Rheumatic Diseases. Sem. Arthritis Rheum. 24:323-358, 1995
- 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.
- 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.
- Fritzler, 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.
- 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.
- 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.
- Nakamura, R.M. and Tan, E.M. Autoantibodies to Nonhistone Nuclear Antigens and Their Clinical Significance. Hum. Pathol. 14:392-400, 1983.
- 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.
- 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.
- Conner, G.E., Nelson, D., Wisniewolski, 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.
- Notman, D.D., Kurata, N., and Tan, E.M. Profiles of Antinuclear Antibodies in Systemic Rheumatic Diseases. Ann. Intern. Med. 83:464-469, 1975.
- Tan, E.M. Antinuclear Antibodies in Diagnosis and Management. Hosp. Pract. 18:78-84, 1983.
- Nilsson, L.-Å. Double Diffusion-in-Gel. Scand. J. Immunol. 17(S10):57-68, 1983.
- 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 6000-I,

4.11.02.003.096-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 outspätt 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 numrerade 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 dubbla 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.

WARNING: Luftströmmar och abrupta ändringar i lufttemperaturen kan leda till 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