

# ANA Scean 8 ELISA

Test immuno-enzymatique pour le dosage qualitatif et quantitatif des anticorps IgG dirigés contre ADNdb, RNP, Sm, SS-A/Ro, SS-B/La, Scl-70, CENP-B et Jo-1 dans le sérum humain.

REF

**RE75421**



**12x8**



**2-8 °C**

EU:

IVD



U.S.:

*For research use only.  
Not for use in diagnostic procedures.*



**I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H**

Flughafenstrasse 52a  
D-22335 Hamburg, Germany

Phone: +49 (0)40-53 28 91-0  
Fax: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com  
www.IBL-International.com

## 1. BUT DU TEST

Test immuno-enzymatique pour le dosage qualitatif et quantitatif des anticorps IgG dirigés contre ADNdb, RNP, Sm, SS-A/Ro, SS-B/La, Scl-70, CENP-B et Jo-1 dans le sérum humain.

## 2. SOMMAIRE ET INTRODUCTION

Les auto-anticorps circulants dirigés contre différents antigènes intracellulaires (anticorps antinucléaires, ANA) sont caractéristiques des maladies rhumatoïdes systémiques, autoimmunes. Celles-ci comprennent le Lupus érythémateux systémique (LES), Syndrome de Sharp (MCTD), Syndrome de Sjögren (SS), Sclérodémie (PSS)/ syndrome de CREST, polyarthrite rhumatoïde (RA) et polymyosites (PM).

Ces dysfonctionnements peuvent souvent être diagnostiqués en dosant les anticorps associés. Huit antigènes reconnus spécifiquement par ces anticorps sont immobilisés séparément sur la microplaque de ce test immuno-enzymatique (ELISA):

Antigène	Source	Maladie
ADNdb	plasmide	LES
RNP (protéines A, C, 68kDa)	humaine, recombinante	MCTD, SLE, RA, PSS
Sm (protéines B, B', D)	thymus bovin	SLE
SS-A/Ro (protéine 60kDa)	thymus bovin	SS, SLE
SS-B/La	humaine, recombinante	SS, SLE
Scl-70 (ADN-topoisomérase I)	humaine, recombinante	PSS
CENP-B	humaine, recombinante	PSS (CREST)
Jo-1 (Histidyl-ARNt-synthétase)	humaine, recombinante	PM

## 3. PRINCIPE DU TEST

Ce test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur la technique sandwich. Les puits sont coatés avec un mélange d'antigènes. Les anticorps spécifiques présents dans l'échantillon se fixent aux antigènes coatés et sont détectés avec un second anticorps conjugué à une enzyme (E-Ab), spécifique à l'IgG humaine. Après la réaction substrat, l'intensité de la couleur développée est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques IgG. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de la courbe étalon.

## 4. PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Seulement prévu au *diagnostic in-vitro* et à l'usage professionnel.
2. Lire les instructions complètement et avec attention avant de commencer le test. Utiliser la version valide de la fiche technique incluse dans le kit. S'assurer que tout a été bien compris.
3. Dans le cas de dommages importants de l'emballage du kit, veuillez contacter IBL ou votre fournisseur sous forme écrite, une semaine au plus tard après avoir reçu le kit. N'utilisez pas les composants abîmés pour un test, mettez-les de côté et en sécurité pour les besoins éventuels liés à la plainte.
4. Suivez le numéro du lot et la date de péremption. Ne pas mélanger les réactifs de différents lots. Ne pas utiliser de réactifs périmés.
5. Suivre les bonnes pratiques de laboratoire et les directives de sécurité. Porter des blouses de laboratoire, gants en latex à usage unique et lunettes de protection si nécessaire.
6. Les réactifs de ce kit contiennent du matériel dangereux pouvant irriter les yeux et la peau. Consulter le MATERIEL FOURNI et les étiquettes pour les détails. Les Fiches de Données de Sécurité pour ce produit sont disponibles sur le site Internet IBL ou sur demande particulière à IBL.
7. Les réactifs chimiques préparés ou utilisés doivent être traités comme matériel dangereux en accord avec les directives et règlements nationaux de sécurité pour tout matériel à risque.
8. Eviter tout contact avec la solution d'arrêt. Elle peut provoquer des irritations et brûlures cutanées.
9. Quelques réactifs contiennent de l'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) comme conservateur. En cas de contact cutané ou avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau.  $\text{NaN}_3$  peut réagir avec le plomb et le cuivre pour former des azides métalliques explosifs. Pour l'élimination des réactifs, rincer avec une grande quantité d'eau pour éviter la formation de ces azides.
10. Tous les réactifs de ce kit contenant des sérums ou plasma humains ont été testés et confirmés négatifs à HIV I/II, HbsAg et HCV. Tous les réactifs doivent être considérés comme potentiellement contaminants et utilisés en tant que tel.

## 5. STOCKAGE ET STABILITE

Le kit est envoyé à température ambiante et doit être stocké à 2-8°C. À conserver à l'abri de la chaleur ou de la lumière directe. Le stockage et la stabilité des échantillons et réactifs préparés sont indiqués dans les chapitres correspondants.

Les barrettes de la microplaque sont stables jusqu'à la date de péremption du kit en étant stockées à 2-8°C avec le dessiccateur dans le sachet déjà ouvert, mais hermétiquement refermé.

## 6. COLLECTE ET STOCKAGE DES ECHANTILLONS

### Sérum

Observer les précautions habituelles de prises de sang. Il est important de préserver l'intégrité chimique d'un échantillon sanguin, de sa collecte jusqu'à son analyse. Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés, ictériques ou lipémiques. Les échantillons d'apparence turbide doivent être centrifugés avant analyse pour éliminer toute particule gênante.

Conservation:	2-8°C	-20°C	À conserver à l'abri de la chaleur ou de la lumière directe. Eviter tout cycles de congélation / décongélation répétés.
Stabilité:	7 jours	> 7 jours	

## 7. MATERIEL FOURNI

Quantité	Symbole	Composant
1 x 12 x 8	<b>MTP</b>	<b>Microplaque</b> Barrettes sécables. Coatée avec un des huit antigènes mentionnés ci-dessus.
1 x 14 mL	<b>ENZCONJ IgG</b>	<b>Conjugué Enzymatique IgG</b> Prêt à l'emploi, coloré en rouge. Contient: anticorps anti-IgG humaine conjugués à de la peroxydase, tampon protéiné et conservateurs.
1 x 3 mL	<b>CONTROL +</b>	<b>Contrôle Positif (= Calibrateur)</b> Prêt à l'emploi, coloré en rouge. Contient: anticorps IgG spécifiques, TBS et conservateurs.
1 x 3 mL	<b>CONTROL -</b>	<b>Contrôle Négatif</b> Prêt à l'emploi, coloré en vert. Contient: TBS et conservateurs.
1 x 100 mL	<b>SAMPLEDIL</b>	<b>Diluant pour Echantillons</b> Prêt à l'emploi, coloré en orange. Contient: TBS et conservateurs.
1 x 14 mL	<b>TMB SUBS</b>	<b>Solution Substrat TMB</b> Prête à l'emploi, incolore. Contient: TMB, peroxyde d'hydrogène.
1 x 100 mL	<b>WASHBUF</b> <b>CONC</b>	<b>Tampon de Lavage, Concentré (10x)</b> Coloré en bleu. Contient: TBS et conservateurs.
1 x 14 mL	<b>STOP</b>	<b>Solution d'Arrêt TMB</b> Prête à l'emploi, incolore. 0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .

## 8. MATERIEL NECESSITE MAIS NON FOURNI

1. Pipettes (Multipette Eppendorf ou matériel similaire, CV < 3%) Volumes: 5; 100; 500 µL
2. Cylindres gradués
3. Tubes (1 mL) pour la dilution des échantillons
4. Micropipette à 8-canaux avec réservoirs pour réactifs
5. Bouteille pour lavage, système automatique ou semi-automatique pour le lavage de microplaque
6. Lecteur de microplaque capable de lire l'absorbance à 450 nm (longueur d'onde de référence 600-650 nm)
7. Eau bidistillée ou désionisée
8. Papier absorbant, embouts de pipette et chronomètre

## 9. NOTES POUR LA PROCEDURE

1. Toute manipulation impropre des échantillons ou modification de la procédure du test peut influencer les résultats. Les volumes indiqués pour pipeter, les temps d'incubation, températures et étapes de pré-traitement doivent être strictement suivis selon les instructions. N'utiliser que des pipettes et appareils calibrés.
2. Une fois que le test a commencé, toutes les étapes doivent être suivies sans interruption. S'assurer que les réactifs, matériels et appareils nécessaires soient prêts au moment approprié. Amener tous les réactifs et échantillons à température ambiante (18-25 °C) et mélanger doucement en tournant chaque flacon de réactif liquide et d'échantillon avant emploi. Mélanger les réactifs sans former de mousse.
3. Eviter toute contamination des réactifs, pipettes et puits/tubes. Utiliser des nouveaux embouts de pipette en plastique pour chaque réactif, étalon ou échantillon. Ne pas interchanger les bouchons. Toujours refermer les flacons non utilisés. Ne pas réutiliser les puits/tubes ou réactifs.
4. Utiliser un schéma de pipetage pour vérifier une bonne répartition des échantillons.
5. Le temps d'incubation affecte les résultats. Tous les puits doivent être manipulés dans le même ordre et aux mêmes intervalles. Il est recommandé d'utiliser une micropipette à 8-canaux pour pipeter les solutions dans tous les puits.
6. Le lavage de la microplaque est important. Des puits mal lavés donneront des résultats erronés. Il est recommandé d'utiliser une pipette à multicanaux ou un système de lavage automatique. Ne pas laisser sécher les puits entre les incubations. Ne pas gratter les puits coatés pendant le rinçage et l'aspiration. Rincer et remplir les réactifs avec soin. Lors du rinçage, vérifier que tous les puits soient bien égouttés du tampon de lavage, et que les puits ne contiennent aucun résidu.
7. L'humidité affecte les puits/tubes coatés. Ne pas ouvrir le sachet avant que celui-ci n'ait atteint la température ambiante. Les puits/tubes inutilisés doivent être rangés immédiatement dans le sachet refermé avec le dessiccateur.

## 10. PREPARATIONS PREALABLES AU TEST

### 10.1. Préparation des Composants

Diluer / dissoudre	Composant		Diluant	Relation	Stockage	Stabilité
100 mL	<b>WASHBUF</b> <b>CONC</b>	Jusqu'à 1000 mL	Eau bidist.	1:10	2-8 °C	4 semaines

### 10.2. Dilution des Echantillons

Echantillon	À être dilué	avec	Relation	Remarques
Sérum	En général	<b>SAMPLEDIL</b>	1:101	Par ex. 5 µL + 500 µL

**11. PROCEDURE DU TEST**

1.	Juste avant emploi, laver une fois la phase solide: remplir chaque puits avec <b>300 µL de Tampon de Lavage</b> , laisser tremper pendant environ 10 secondes et vider.
2.	Pipeter <b>100 µL</b> de chaque <b>Etalon, Contrôle et échantillon dilué</b> dans les puits respectifs de la microplaque. La fiabilité de l'analyse peut être améliorée en effectuant des dosages en double.
3.	<b>Incuber 30 min à température ambiante (18-25°C).</b>
4.	Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque <b>3 x</b> avec <b>300 µL de Tampon de Lavage</b> dilué. Egoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
5.	Pipeter <b>100 µL</b> de <b>Conjugué Enzymatique</b> dans chaque puits.
6.	<b>Incuber 30 min à température ambiante (18-25°C).</b>
7.	Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque <b>3 x</b> avec <b>300 µL de Tampon de Lavage</b> dilué. Egoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
8.	Utiliser une micropipette à 8 canaux si possible pour l'ajout des solutions substrat et d'arrêt. Pipeter ces solutions à la même cadence. Utiliser un déplacement positif et éviter la formation de bulles d'air.
9.	Pipeter <b>100 µL</b> de <b>Solution Substrat TMB</b> dans chaque puits.
10.	<b>Incuber 30 min à température ambiante (18-25°C)</b> (à l'abri de la lumière directe).
11.	Arrêter la réaction substrat en ajoutant <b>100 µL</b> de <b>Solution d'Arrêt TMB</b> dans chaque puits. Agiter la plaque rapidement. La couleur vire du bleu au jaune.
12.	<b>Mesurer</b> la densité optique avec un photomètre à <b>450 nm</b> (longueur d'onde de référence: 600-650 nm) dans les <b>30 min</b> suivant l'ajout de la Solution d'Arrêt.

**12. CONTROLE QUALITE**

Les résultats du test ne sont valides que si l'essai a été réalisé en suivant les instructions. De plus, l'utilisateur doit strictement suivre les règles de bonne pratique de laboratoire (GLP, Good Laboratory Practice) ou autres lois/standards applicables. Tous les étalons et contrôles du kit doivent être trouvés dans les gammes acceptables indiquées dans le certificat de Contrôle Qualité (QC). Si ces critères ne sont pas remplis, le test est non valide et il doit être répété. Chaque laboratoire devrait utiliser des échantillons connus comme contrôle supplémentaire.

En cas de déviation des résultats, vérifier les origines éventuelles techniques: dates de péremption des réactifs (préparés), conditions de stockage, pipettes, appareils, conditions d'incubation et méthodes de lavage.

Il est recommandé de participer aux programmes de contrôle qualité appropriés.

**13. CALCUL DES RESULTATS**

Ce test est évalué de manière **qualitative**. L'absorbance (DO) des échantillons est comparée avec la DO limite (= cut-off ou seuil). La DO limite est déterminée par la formule suivante:

$$DO_{\text{limite}} = DO_{\text{contrôle positif}} \times \text{facteur}$$

Le facteur dépend du numéro de lot du kit et est indiqué sur le certificat de contrôle qualité inclus dans chaque trousse. Exemple:

$$\begin{aligned} DO_{\text{contrôle positif}} &= 1.270 \\ \text{facteur} &= 0.37 \\ DO_{\text{limite}} &= 1.270 \times 0.37 = 0.470 \end{aligned}$$

Pour obtenir une idée sur le degré de la réactivité d'un échantillon, il est possible de calculer le ratio avec la formule ci-dessous.

$$\text{ratio} = \text{DO}_{\text{échantillon}} / \text{DO}_{\text{limite}}$$

Exemple:

$$\begin{aligned} \text{DO}_{\text{limite}} &= 0.470 \\ \text{DO}_{\text{échantillon}} &= 1.425 \\ \text{ratio} &= 1.425 / 0.470 = 3.0 \end{aligned}$$

#### 14. INTERPRETATION DES RESULTATS

Interprétation	Dosage qualitatif Ratio
Négatif	< 0.80
Cut-off (seuil)	1.0
Equivoque	0.80 - 1.20
Positif	> 1.20

Les résultats ne peuvent pas être l'unique raison de conséquences thérapeutiques. Ils doivent être corrélés à d'autres observations cliniques et tests diagnostics.

#### 15. VALEURS ATTENDUES

Les résultats suivants ont été obtenus suite à une étude basée sur des sérums de 160 donneurs sanguins, représentés de manière équilibrée en fonction du sexe et de l'âge:

	<u>Ratio</u>
Moyenne:	0.65
Moyenne + 2 SD:	1.55
Médiane:	0.55
95 % pourcentile:	1.15

#### 16. LIMITES DE LA PROCEDURE

La collecte des échantillons a une influence significative sur les résultats du test. Voir le paragraphe COLLECTE ET STOCKAGE DES ECHANTILLONS pour plus de détails.

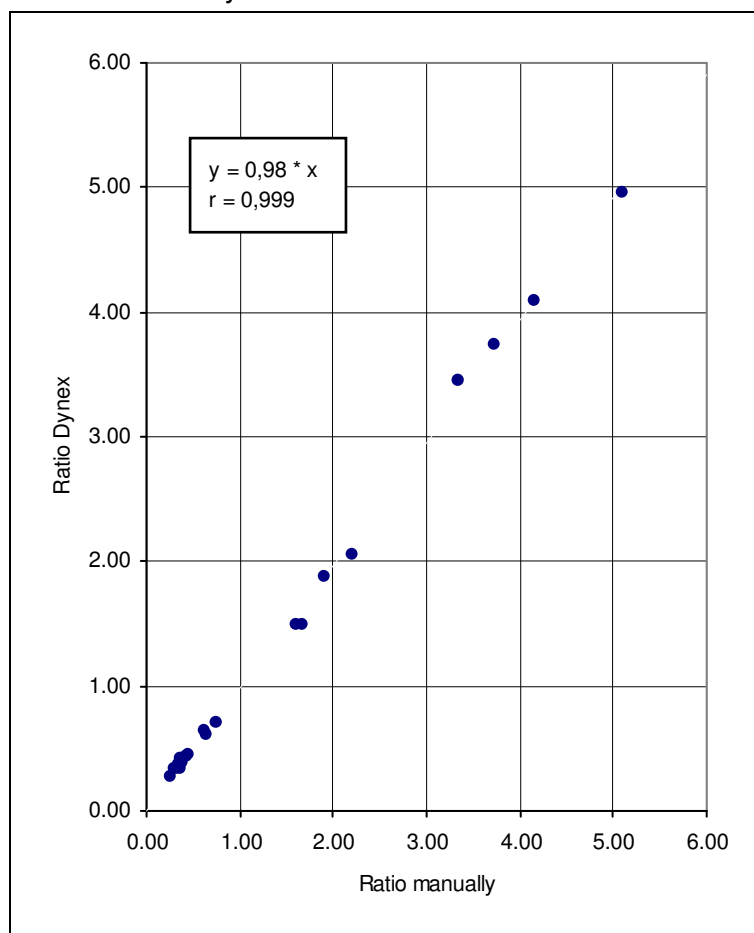
L'azide et le thimérosal à des concentrations > 0.1 % interfèrent dans ce test et peuvent mener à de faux résultats.

#### 17. PERFORMANCE

<b>Sensibilité Analytique</b>	Limite de détection (3 x SD du tampon pour échantillon) < 0.25 (ratio ; n = 24)			
<b>Spécificité Analytique</b>	Spécifique à l'IgG humaine anti- ADNdb, RNP, Sm, Ro/SS-A, La/SS-B, Scl-70, CENP-B et Jo-1			
<b>Précision</b>	<b>Variabilité intra-essai (n = 24)</b>		<b>Variabilité inter-essai (n = 72)</b>	
	Ratio	% CV	Ratio	% CV
	1.5	2.0	1.3	2.2
	2.2	2.1	2.6	2.2
	4.4	1.5	3.6	1.8
	<b>Variabilité entre 3 laborantins (n = 12)</b>		<b>Variabilité entre 2 lots de kit (n = 2)</b>	
	Ratio	% CV	Ratio	% CV
	1.3	2.6	1.4	5.1
2.6	1.9	2.1	5.6	
3.9	3.0	4.2	4.0	
<b>Linéarité</b>	Non déterminée du fait de l'analyse qualitative relative au test			

## 18. AUTOMATISATION

Manuel contre Dynex DS2



Variabilité: En utilisant des échantillons du même lot, la variabilité entre les résultats d'analyse de la procédure manuelle et le système automatisé de Dynex DS2 ELISA ont été comparés.

	fonctionnement manuel		Dynex DS2	
	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 1	Échantillon 2
Variabilité Intra-Essai (n = 8)				
CV <sub>Moyenne</sub>	1.63 %	0.90 %	2.37 %	1.87 %
Variabilité Inter-Essai (n = 24)				
CV <sub>Moyenne</sub>	2.61 %	2.99 %	6.72 %	1.97 %

## 19. LITTÉRATURE DE REFERENCE SUR LE PRODUIT

1. Nakamura, R. M., Tan, E. M.: Update on autoantibodies to intracellular antigens in systemic rheumatic diseases. Clin Lab Med 12 (1992), 1 - 23
2. Guma, M., Keil, L. B.: Autoantibodies to cellular antigens in systemic autoimmune diseases. J Clin Immunoassay 17 (1994), 98 - 107
3. Fritzler, M. J.: Clinical relevance of autoantibodies in systemic rheumatic diseases. Mol Biol Rep 23 (1996), 133 - 145
4. Hietarinta, M., Lassila, O.: Clinical significance of antinuclear antibodies in systemic rheumatic disease. Ann Med 28 (1996), 283 - 291
5. Messinger, M.: Autoantikörper bei systemischen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen (Kollagenosen). In: L. Thomas (ed.): Labor und Diagnose (2005), TH-Books-Verlags-Gesellschaft, Frankfurt/Main, 1139 - 1161
6. Sommer, R., and Eitelberger, F.: Wertigkeit der Gliadin-Antikörper im Serum zur Diagnose der Zöliakie. Wien Klin Wochenschr 104/4 (1992), 86 - 92

# Symbols / Symbole / Symbôles / Símbolos / Símbolos / Σύμβολα

	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.-Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
	Concentrate / Konzentrat / Concentré / Concentrar / Concentrado / Concentrato / Συμπύκνωμα
	Lyophilized / Lyophilisat / Lyophilisé / Liofilizado / Liofilizado / Liofilizzato / Λυοφιλιασμένο
	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro Διάγνωση.
	Evaluation kit. / Nur für Leistungsbewertungszwecke. / Kit pour évaluation. / Juego de Reactivos para Evaluació. / Kit de avaliação. / Kit di valutazione. / Κιτ Αξιολόγησης.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / Διαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Keep away from heat or direct sun light. / Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen. / Garder à l'abri de la chaleur et de toute exposition lumineuse. / Manténgase alejado del calor o la luz solar directa. / Manter longe do calor ou luz solar directa. / Non esporre ai raggi solari. / Να φυλάσσεται μακριά από θερμότητα και άμεση επαφή με το φως του ηλίου.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabricante: / Παραγωγός:
	Caution! / Vorsicht! / Attention! / ¡Precaución! / Cuidado! / Attenzione! / Προσοχή!
<p>Symbols of the kit components see MATERIALS SUPPLIED.          Die Symbole der Komponenten sind im Kapitel KOMPONENTEN DES KITS beschrieben.          Voir MATERIEL FOURNI pour les symbôles des composants du kit.          Símbolos de los componentes del juego de reactivos, vea MATERIALES SUMINISTRADOS.          Para símbolos dos componentes do kit ver MATERIAIS FORNECIDOS.          Per i simboli dei componenti del kit si veda COMPONENTI DEL KIT.          Για τα σύμβολα των συστατικών του κιτ συμβουλευτείτε το ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ.</p>	

## IBL AFFILIATES WORLDWIDE

	<b>IBL International GmbH</b> Flughafenstr. 52A, 22335 Hamburg, Germany	Tel.: + 49 (0) 40 532891 -0 Fax: -11 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: <a href="http://www.IBL-International.com">http://www.IBL-International.com</a>
	<b>IBL International Corp.</b> 194 Wildcat Road, Toronto, Ontario M3J 2N5, Canada	Tel.: +1 (416) 645 -1703 Fax: -1704 E-MAIL: Sales@IBL-International.com WEB: <a href="http://www.IBL-International.com">http://www.IBL-International.com</a>

**LIABILITY:** Complaints will be accepted in each mode –written or vocal. Preferred is that the complaint is accompanied with the test performance and results. Any modification of the test procedure or exchange or mixing of components of different lots could negatively affect the results. These cases invalidate any claim for replacement. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer