

## IMMUNODOT™ AUTOIMMUNITY SCREENING PANEL 1 - ANA TOT - ds-DNA

Test immunodot per la determinazione qualitativa nel siero umano di autoanticorpi diretti verso gli antigeni ANA Totali, ds-DNA, RNP/Sm, SS-A/Sm

Codice 800-5125

Confezione 25 test

### 1. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è un dosaggio immunoenzimatico. L'analisi avviene grazie ad una strip che è una membrana fissata su un supporto di plastica. La procedura prevede che le strip siano poste in incubazione con il siero dei pazienti diluito. Se presenti, gli anticorpi umani si legano allo/agli specifico/specifici antigeni sulla membrana. Gli anticorpi non legati o in eccesso vengono rimossi mediante lavaggio e le strip vengono quindi incubate con anticorpi di capra coniugati con fosfatasi alcalina diretti verso IgG umane. Il coniugato enzimatico si lega al complesso antigene-anticorpo. Dopo un secondo lavaggio, per rimuovere l'eccesso di coniugato, si aggiunge il substrato. Se presente, l'attività dell'enzima determina lo sviluppo di punti rossi sui cuscinetti della membrana. L'intensità della colorazione è direttamente proporzionale alla quantità di anticorpi presenti nel campione. Test a lettura visiva.

### 2. REAGENTI E STRUMENTAZIONI

#### 2.1 Reagenti e materiali forniti nel kit

- ❖ **STRIP** (25) ognuna con 6 dots  
Controllo positivo, 4 antigeni, controllo negativo.
- ❖ **DILUENTE CAMPIONE R1** (liquido e pronto all'uso)  
pH 6.2-7.6, proteine, stabilizzanti e azoturo di sodio < 0,1%
- ❖ **ATTIVATORE R2** (liquido e pronto all'uso)  
Cloruro di sodio e azoturo di sodio < 0,1%
- ❖ **CONIUGATO ENZIMATICO R3** (liquido e pronto all'uso)  
Anticorpi di capra coniugati con AP diretti verso IgG umane.  
Tampone pH 6.2-8.5 e stabilizzanti.
- ❖ **SUBSTRATO R4** (liquido e pronto all'uso)  
NBT/BCIP e azoturo di sodio < 0,1%

#### 2.2 Note

Per uso diagnostico in vitro.

Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza, non miscelare reagenti di lotti diversi o reagenti prodotti da altre aziende. Utilizzare acqua deionizzata o distillata per il lavaggio delle strips. Alcuni componenti contengono sodio azide che a contatto con rame o piombo possono produrre azidi metalliche potenzialmente esplosivi. Per lo smaltimento si raccomanda un utilizzo abbondante di acqua.

#### 2.3 Reagenti e Strumentazioni necessari non forniti nel kit

Acqua distillata o deionizzata.

Termoblock per le incubazioni o in alternativa una stufa o un termostato.

#### REAGENTI NECESSARI MA NON FORNITI NEL KIT

Acqua distillata

#### 2.4 PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- ❖ Tutti i reagenti sono liquidi e pronti all'uso.
- ❖ Prima dell'uso portare tutti i reagenti a T.A.
- ❖ I reagenti aperti sono stabili fino alla data di scadenza se conservati a +2-8°C.

### 3. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

#### 3.1 Avvertenze

- ❖ Utilizzare campioni di Siero o Sangue Intero in Eparina.
- ❖ Il test richiede 10 µL di siero o 20 µL di sangue intero.
- ❖ Può essere utilizzato sangue intero da pungidito.
- ❖ Il siero ed il sangue intero eparinato possono essere conservati a 2-8°C per 5 giorni.
- ❖ Il siero può essere congelato a -20°C per lunghi periodi.

- ❖ Non sono stati eseguiti studi sulla possibilità di congelamento del sangue intero.

### 4. PROCEDIMENTO

Le incubazioni devono essere eseguite ad una temperatura compresa tra 44 e i 47°C. Portare il Termoblock o la stufa o il termostato a 45/46°C.

Prelevare dalla confezione 4 cuvette di reazione e dispensare :

|       |                 |           |
|-------|-----------------|-----------|
| 2 mL. | R1 - DILUENTE   | DILUENT   |
| 2 mL. | R2 - ATTIVATORE | ENHANCER  |
| 2 mL. | R3 - CONIUGATO  | CONIUGATE |
| 2 mL. | R4 - SUBSTRATO  | DEVELOPER |

Dispensare :

10 µL di siero o 20 µL di sangue intero nella cuvetta di reazione contenente il **DILUENTE R1**

**4.1** Prelevare una STRIP dalla confezione ed immergerla in una provetta contenente acqua distillata per 30/60 secondi.

**Asciugare su carta assorbente ed immergerla nella cuvetta contenente il siero diluito. Agitare la STRIP per 5/10 volte miscelando bene il diluente con il campione.**

Lasciare la STRIP immersa nella cuvetta ( **R1 + Campione** ) ed incubare per 15 minuti a 45/46°C.

**4.2** Rimuovere la STRIP e lavare immergendo la strip in una provetta contenente acqua distillata. Agitare su e giù la STRIP per 5/10 secondi, quindi immergere la STRIP nella cuvetta contenente il reagente **R2 Attivatore** (Enhancer), agitare per 5/10 secondi ed incubare per 5 minuti a 45/46°C.

**4.3** Rimuovere la STRIP e lavare come nel punto **4.2.**, quindi immergere la STRIP nella cuvetta contenente il reagente **R3 Coniugato**, agitare per 5/10 secondi ed incubare per 15 minuti a 45/46°C.

**4.4** Rimuovere la STRIP e lavare come nel punto **4.2.**, agitare su e giù la STRIP per 5/10 secondi e lasciarla immersa per **5 minuti**. Rimuovere la STRIP dalla provetta contenente acqua distillata ed immergerla nella cuvetta contenente il reagente **R3 Substrato (DEVELOPER)**, agitare per 5/10 secondi ed incubare per 5 minuti a 45/46°C.

**4.5** Rimuovere la STRIP e lavare come nel punto **4.2**. Rimuovere la STRIP dalla provetta contenente acqua distillata e asciugarla depositandola su carta assorbente. I risultati positivi già visibili immediatamente, saranno sempre più netti man mano che la STRIP si asciuga.

### 5. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il controllo positivo, il primo dot superiore deve essere nettamente colorato.

Ogni dot della STRIP a seguire deve essere interpretato autonomamente. Il controllo negativo, l'ultimo dot della strip non deve colorarsi.

L'intensità del colore dei dot antigene-specifici è direttamente proporzionale al titolo dello specifico anticorpo nel campione del paziente in esame.

Le reazioni si dividono in tre categorie:

Non reattivo, nessun dot si colora, Reazione Negativa.

Debolmente reattivo, il dot non è facilmente visibile e deve essere interpretato come Negativo.

Dot nettamente colorato, Reazione Positiva.

Deboli reazioni possono indicare un basso livello di autoanticorpi o cross reazioni, anticorpi non specifici su soggetti normali.

#### 5.1 Risultato Positivo

Un campione è positivo per uno specifico anticorpo se il colore di un dot specifico per un dato antigene è ben visibile, colorato al centro. Il perimetro esterno deve essere bianco o grigio chiaro.

#### 5.2. Risultato Negativo

Un campione è negativo per uno specifico anticorpo se nessun dot specifico per un dato antigene è colorato o debolmente colorato.



## 6. LIMITI DELLA PROCEDURA

Un test negativo non deve essere usato come unico criterio per escludere malattie autoimmuni.

Nessun test di screening singolo contiene tutti i possibili antigeni nucleari.

La diagnosi di malattie autoimmuni richiede l'integrazione di ulteriori informazioni cliniche ed epidemiologiche.

Ogni dot positivo anche se di intensità di colore differente dal controllo positivo indica la presenza di anticorpi antinucleari.

In alcuni casi può verificarsi positività soltanto per l'ANA totale.

Raramente possono verificarsi positività per uno o più dot di antigeni specifici e negatività per l'ANA totale.

## 7. Prestazioni

### 7.1 Specificità

| ANALITA   | SPECIFICITÀ |
|-----------|-------------|
| Total ANA | >99%        |
| Ds-DNA    | 96%         |
| RNP/Sm    | 90%         |
| SS A/B    | >99%        |

### 7.2 Sensibilità

| ANALITA   | SENSIBILITÀ |
|-----------|-------------|
| Total ANA | 91%         |
| Ds-DNA    | 98%         |
| RNP/Sm    | >99%        |
| SS A/B    | 96%         |

## DISPOSIZIONI PER LO SMALTIMENTO

I reagenti devono essere smaltiti in accordo con le leggi locali.

## BIBLIOGRAFIA

- Harley, J B and Gaither, K K. Systemic Lupus Erythematosus-Autoantibodies. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 1988, Vol. 14, 5, p. 43.
- US Centers for Disease Control. *Manual Guide – Safety Management No. CDC-22 Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts*. Atlanta : Centers for Disease Control, 1976.
- . *HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd ed: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. Washington DC : US Government Printing Office, 1993.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. *29 CFR Part 1910.1030, Occupational safety and health standards, bloodborne pathogens*.
- US Department of Health and Human Services. *HHS Publication No. (CDC) 21-11: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed*. Washington DC : US Government Printing Office, 2009.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual 3rd ed*. Geneva : World Health Organization, 1991.
- Nakamura, R M and Tan, E M. Autoantibodies to nonhistone nuclear antigens and their clinical significance. *Human Pathology*. 1983, Vol. 14, 5, p. 392.
- Tan, E M. Antinuclear Antibodies in Diagnosis and Management. *Hospital Practice*. 1983, Vol. 18, p. 79.

## SIMBOLOGIA

| LEGENDA DEI SIMBOLI |  |  |                 |  |                 |
|---------------------|--|--|-----------------|--|-----------------|
|                     | Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso       |  | Test per kit    |  | Produttore      |
|                     | Unicamente per diagnosi in vitro                     |  | Scadenza        |  | Monouso         |
|                     | Conservare ad una temperatura compresa tra 2° e 30°C |  | Numero di lotto |  | Codice prodotto |

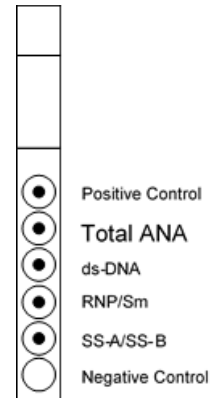
## SCHEMA SINTETICO DELLA PROCEDURA IMMUNODOT AUTO 1

### SET-UP

- portare la workstation o il termostato a temperatura
- predisporre le cuvette di reazione e una provetta con acqua distillata per i lavaggi
- dispensare 2 mL di R1, R2, R3 ed R4 in 4 differenti cuvette di reazione
- attendere 10 minuti

### PROCEDURA

- Dispensare 10 µL di siero nella cuvetta R1
- immergere la strip in acqua distillata per 30/60 sec.
- immergere la strip nella cuvetta R1 e incubare 15 min.
- rimuovere la strip, lavare in acqua distillata per 5/10 sec.
- immergere la strip nella cuvetta R2 e incubare 5 min.
- rimuovere la strip, lavare in acqua distillata per 5/10 sec.
- immergere la strip nella cuvetta R3 e incubare 15 min.
- rimuovere la strip e immergerla in acqua distillata per 5 min.
- immergere la strip nella cuvetta R4 e incubare 5 min.
- rimuovere la strip, lavare in acqua distillata, asciugare su carta assorbente e leggere i risultati



## Produttore

**GenBio**

Innominata dba GenBio  
15222 Avenue of Science, Suite A  
San Diego, CA 92128  
Toll Free 800-288-IDOT (4368)  
FAX: +1 858.592.9400



## ITALY CONTACT

Meridian Healthcare®

Meridian Healthcare srl  
68, via G. Guglielmino  
Tremestieri Etneo, CT 95030  
Phone: +39 095 725 68 69  
FAX: +39 095 725 44 54