









IFA Autoscreen I & II Antibody Test System

REF	1148L	 = 48; Contains 48 Tests
REF	1196L	 = 96; Contains 96 Tests
REF	1248L(Ms)	 = 48; Contains 48 Tests
REF	1296L(Ms)	 = 96; Contains 96 Tests
REF	2148L	 = 48; Contains 48 Tests
REF	2196L	 = 96; Contains 96 Tests
REF	2248L(Ms)	 = 48; Contains 48 Tests
REF	2196L(Ms)	 = 96; Contains 96 Tests



L'italiano / El español / Français / Deutsch

for in vitro diagnostic use

SCIMEDX
CORPORATION

Titolo del test:

Test IFA di screening autoimmune Autoscreen I e Autoscreen II

Uso previsto:

Il test di immunofluorescenza indiretta è raccomandato come test di screening per gli autoanticorpi antinucleari (ANA), antimitocondriali (MA), anticellula parietale (PCA) antimuscolatura liscia (SMA) e antireticolina in circolazione nel siero del paziente.

Principi:

La reazione primaria del test implica la circolazione nel siero del paziente di anticorpi che si legano ai loro antigeni omologhi. Ciò si verifica durante il periodo di incubazione, quando il siero ricopre la superficie dell'antigene. Successivamente ad un periodo di risciacquo necessario per la rimozione degli anticorpi umani non legati, avviene una reazione secondaria. Il reagente utilizzato nella reazione secondaria è un coniugato antiglobulina umana marcato con fluoresceina. La superficie dell'antigene viene quindi completamente risciacquata in modo da eliminare il coniugato non legato e quindi osservata con un idoneo microscopio a fluorescenza.

Materiali in dotazione:

Conservazione e stabilità dei componenti

1. Rene/stomaco di ratto o topo (conservare a una temperatura di 2-8°C).
2. Fegato/rene/stomaco di ratto o topo (conservare a una temperatura di 2-8°C).
3. Controllo positivo MA
4. Controllo positivo ANA di tipo omogeneo (conservare a una temperatura di 2-8°C).
5. Controllo positivo SMA (conservare a una temperatura di 2-8°C).
6. Controllo negativo universale (conservare a una temperatura di 2-8°C).
7. Coniugato FITC IgG H&L (conservare a una temperatura di 2-8°C) oppure
8. Coniugato FITC IgG H&L con Evans Blue (conservare a una temperatura di 2-8°C).
9. Confezione tampone n. 1601 - Tampone fosfato. Il tampone ricostituito non contiene conservanti e deve essere conservato a una temperatura di 2-8°C.
10. La soluzione di montaggio FITC n. 1610 rimane stabile se conservata a una temperatura di 2-8°C.

Materiali aggiuntivi richiesti ma non in dotazione:

Frovettes per test e cestello o sistema per microtitolazione
 Pipette monouso
 Vaschetta per colorazione e pinze per vetrini
 Camera umida
 Pallone volumetrico (500 ml)
 Acqua distillata
 Microscopio a fluorescenza
 Carta assorbente che non lasci residui

Preparazione del reagente:

1. Confezione tampone n. 1601. Reidratare il tampone con 1 litro di acqua distillata sterile.

Raccolta dei campioni:

Raccogliere i campioni sierologici in contenitori asettici. L'emolisi viene evitata separando tempestivamente il siero dal coagulo. Conservare il siero a una temperatura di 2-8°C se questo deve essere analizzato entro pochi giorni. È possibile conservare il siero per un periodo di 3-6 mesi a una temperatura pari o inferiore a -20°C. Evitare il siero lipemico e fortemente emolitico. Se i campioni vengono spediti a temperatura ambiente, si raccomanda l'aggiunta di un conservante quale (limerosal) 0,01% o sodio azide 0,095%.

Istruzioni per il test:**Screening:** diluire i sieri da testare 1:20 in tampone fosfato.**Titolazioni:** impostare diluzioni di siero al raddoppio a partire da 1:20 (cioè 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, ecc.)

1. Coniugati e vetrini raggiungono la temperatura ambiente, strappare l'involucro in corrispondenza dell'apposita tacca. Rimuovere con cautela il vetrino dall'involucro evitando di toccare le aree su cui è presente l'antigene. Il vetrino è pronto per l'uso.
2. Versare una goccia di siero diluito (da 20 a 30 µl) e i controlli sui pozzetti dell'antigene.
3. Posizionare il vetrino con il siero del paziente e i controlli in una camera umida a temperatura ambiente (circa 24°C) per 30 minuti.
4. Rimuovere il vetrino dalla camera umida e battere leggermente con il polpastrello su un lato del vetrino per fare gocciare il siero su un pezzo di carta assorbente. Risciacquare delicatamente il siero rimanente sul vetrino con spruzzatura per lavaggio facendo attenzione a non dirigere il getto direttamente sul pozzetto.
5. Lavare in tampone fosfato per cinque minuti. Ripetere la procedura utilizzando tampone fosfato fresco.
6. Posizionare un tampone di carta assorbente sul tavolo del laboratorio con il lato assorbente rivolto verso l'alto. Rimuovere il vetrino dal tampone fosfato e capovolgerlo in modo che il lato su cui è applicato il campione di tessuto sia a contatto con il lato assorbente del tampone. Allineare i pozzetti con i fori del tampone. Posizionare il vetrino sulla parte superiore del tampone. Non lasciare asciugare il tessuto. Pulire la parte posteriore del vetrino con carta assorbente asciutta che non lasci residui. Assorbire il tampone fosfato con la carta esercitando una leggera pressione ed accertarsi che il vetrino sia asciutto.
7. Versare 1 goccia (20-30 µl) di coniugato in ciascun pozzetto di antigene. Ripetere le fasi da 3 a 6.
8. Versare 4-5 gocce di soluzione di montaggio sul vetrino.
9. Applicare un vetrino coprioggetto da 22 x 70 mm. Esaminare il vetrino al microscopio a fluorescenza.

Nota: per mantenere la fluorescenza, conservare il vetrino montato in una camera umida all'interno di un refrigeratore al buio.

Controllo di qualità:

1. I controlli di siero positivo e negativo devono essere inclusi in tutti i test del giorno per confermare la riproducibilità, la sensibilità e la specificità della procedura.

- Il controllo di siero negativo deve visualizzare una fluorescenza minima (+) o nulla. Una eventuale fluorescenza evidente di questo controllo indica un problema a livello di controllo, di antigene, di coniugato o di procedura tecnica.
- Il controllo di siero positivo deve visualizzare una fluorescenza evidente da 3+ a 4+. Una eventuale fluorescenza minima o nulla di questo controllo indica un problema a livello di controllo, di antigene, di coniugato o di procedura tecnica.
- In aggiunta ai controlli di siero positivi e negativi, eseguire un controllo con tampone fosfato per stabilire se il coniugato è libero da colorazioni non specifiche del substrato dell'antigene. Se l'antigene mostra una fluorescenza evidente nel controllo con tampone fosfato, ripetere la procedura utilizzando coniugato fresco. La presenza continua di fluorescenza indica un problema a livello del coniugato o dell'antigene stesso.
- La Proclina (0,045%) è compresa in controlli e coniugato.
- Non utilizzare componenti scaduti.
- Per garantire risultati validi, seguire le istruzioni procedurali esattamente come vengono descritte in questo inserto.
- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Manipolare i vetrini prendendoli dai bordi in quanto la pressione diretta sui pozzetti dell'antigene può danneggiare l'antigene stesso.
- Dopo aver iniziato la procedura, non fare asciugare l'antigene nel pozzetto. Ciò può comportare risultati falsi negativi o artefatti inutili.

Interpretazione del titolo:

Il titolo è la diluizione più alta del siero del paziente che mostra una fluorescenza debole (1+).

Inferiore a 1:20	Normale: praticamente esclude il lupus eritematoso sistemico (LES) attivo se il paziente non è stato sottoposto a terapia immunosoppressiva o non è in fase di remissione.
1:20 - 1:80	Test positivo spesso riscontrato nell'artrite reumatoide e in altre malattie del tessuto connettivo. Ripetere il test su un campione di siero fresco dopo due settimane. Un aumento del titolo suggerisce LES attivo. L'assenza di cambiamenti nel titolo indica una possibile altra malattia autoimmune in una condizione statica, un caso di LES trattato o un altro processo autoimmune.
1:160 o superiore	Elevata possibilità di LES, anche se altre malattie autoimmuni e alcuni farmaci possono indurre titoli elevati.

Risultati:

ANA: Risultato positivo se viene osservato uno dei quattro quadri di colorazione di base individualmente o in diverse combinazioni. I quadri caratteristici vengono meglio osservati con obiettivi a secco ad alto ingrandimento.

- Omogeneo (diffuso) - fluorescenza dell'intero nucleo uniforme e diffusa.
- Periferico (bordato, irregolare) - la membrana nucleare ha una fluorescenza più intensa dell'area centrale.
- Granulare - numerose piccole "macchie" di fluorescenza in tutto il nucleo.
- Nucleolare - I nucleoli sono colorati uniformemente e nei nuclei si osservano da 1 a 5 grandi aree sferiche di fluorescenza.

Precauzioni:

- Tutti i componenti umani sono stati testati mediante test radioimmunologico per (HBsAg) e HTLVIII/LAV con metodo approvato dalla FDA e sono risultati negativi (non reattivi ripetutamente). Tuttavia, questo non garantisce l'assenza di HBsAg o HTLVIII/LAV. Tutti i componenti umani devono essere manipolati con estrema cautela.

El español

Nombre de la prueba:

Ensayo de criba (screening) autoinmune IFA Autoscreen I y Autoscreen II

Aplicación:

La prueba de inmunofluorescencia indirecta se recomienda como prueba de criba para autoanticuerpos circulantes antinucleares (ANA), antimitocondriales (AMA), anti células parietales (PCA), anti músculo liso (AML) y antireticulina en suero del paciente.

Principio:

La principal reacción de la prueba consiste en la unión de anticuerpos circulantes del suero del paciente a sus antígenos homólogos. Esto sucede durante el período de incubación en el que el suero recubre la superficie de antígeno. Tras un período de lavado para eliminar los anticuerpos humanos que no se han unido se procede a una reacción secundaria. El reactivo utilizado en la reacción secundaria es un conjugado de globulina humana marcada con fluoresceína. A continuación, la superficie de antígeno se aclara a fondo para eliminar el conjugado que no se ha unido y se examina en un microscopio de fluorescencia adecuado.

Materiales suministrados:

Almacenamiento y estabilidad de los componentes

1. Rata o ratón (riñón/ estómago) (almacenar a 2-8 °C)
2. Rata o ratón (hígado/ riñón/ estómago) (almacenar a 2-8 °C)
3. Control positivo AMA
4. Control positivo homogéneo ANA (almacenar a 2-8 °C).
5. Control positivo de músculo liso AML (almacenar a 2-8 °C).
6. Control negativo universal (almacenar a 2-8 °C).
7. Conjugado IgG (H y L) de FITC (almacenar a 2-8 °C), o bien,
8. Conjugado IgG (H y L) de FITC con azul de Evans (almacenar a 2-8 °C).
9. Sobre de tampón n.º 1601 - tampón fosfato salino (PBS, el tampón reconstituido no contiene conservantes y debe almacenarse a 2-8 °C).
10. El medio de montaje FITC n.º 1610 es estable cuando se almacena a 2-8 °C.

Otros materiales necesarios pero no suministrados:

Tubos de ensayo y gradilla, o sistema de micro-titulación
Pipetas desechables
Placa de tinción y pinzas para portaobjetos
Cámara húmeda
Matraz volumétrico (500 ml)
Agua destilada
Microscopio de fluorescencia
Toallas de papel que no dejen pelusa

Preparación del reactivo:

1. Sobre de tampón n.º 1601. Rehidratar el tampón con 1 litro de agua destilada estéril.

Toma de muestras:

Las muestras serológicas deben extraerse en condiciones asepticas. La hemólisis se evita separando rápidamente el suero del coágulo. Si se va a analizar en pocos días, el suero debe almacenarse a 2-8 °C. Puede conservarse de 3 a 6 meses a una temperatura de -20 °C o inferior. No conviene utilizar sueros lipémicos o fuertemente hemolíticos. Si las muestras se guardan a temperatura ambiente, es altamente recomendable añadir un conservante, como por ejemplo timerosal al 0,01% o azida sódica al 0,095%.

Instrucciones del ensayo:

Criba (screening): diluya los sueros de prueba en proporción 1:20 en PBS.

Titulaciones: prepare diluciones de suero seriadas en proporción 2x a partir de 1:20 (es decir, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, etc.).

1. Una vez que el portaobjetos alcance la temperatura ambiente, rasgue el envoltorio tirando de la pestaña. Saque cuidadosamente el portaobjetos, evitando tocar las zonas de antígeno. El portaobjetos está listo para usar.
 2. Ponga una gota del suero diluido (de 20 a 30 µl) y de los controles en los pocillos de antígeno.
 3. Coloque el portaobjetos con el suero del paciente y los controles en una cámara húmeda a temperatura ambiente (aproximadamente 24 °C) durante 30 minutos.
 4. Retire el portaobjetos de la cámara húmeda, sujételo de canto sobre una toalla de papel y dele unos golpecitos para vaciar el suero. Utilice un frasco lavador para aclarar suavemente los restos de suero del portaobjetos procurando no dirigir el chorro directamente hacia el pocillo.
 5. Lávelo en PBS durante cinco minutos. Repita la operación con PBS nuevo.
 6. Coloque un secante sobre la poyata de laboratorio con la cara absorbente hacia arriba. Retire el portaobjetos del PBS, dele la vuelta de modo que la cara de tejido quede orientada hacia la cara absorbente del secante. Alinee los pocillos con los orificios del secante. Coloque el portaobjetos sobre el secante. No deje que el tejido se seque. Seque el dorso del portaobjetos con una toalla de papel que no deje pelusa. Al secarlo, aplique al portaobjetos la presión necesaria para absorber el tampón.
 7. Ponga 1 gota (20-30 µl) de conjugado en cada pocillo de antígeno. Repita los pasos 3 a 6.
 8. Ponga 4 ó 5 gotas de medio de montaje en el portaobjetos.
 9. Coloque un cubreobjetos de 22 x 70 mm. Examine el portaobjetos con un microscopio de fluorescencia.
Nota: para mantener la fluorescencia, guarde el portaobjetos montado en la nevera dentro una cámara húmeda y a oscuras.
- ### Control de calidad:
1. Para confirmar la reproducibilidad, sensibilidad y especificidad del ensayo es necesario incluir controles de suero positivo y negativo en los análisis todos los días.
 2. El resultado del control de suero negativo debe ser poca (+) o ninguna fluorescencia. Si este control muestra una fluorescencia brillante, el problema puede estar en el control, el antígeno, el conjugado o en la técnica.
 3. El resultado del control de suero positivo debe ser una fluorescencia brillante del orden de 3+ a 4+. Si este control muestra poca o ninguna fluorescencia, el problema puede estar en el

control, el antígeno, el conjugado o en la técnica.

- Además de los controles de suero positivo y negativo, debe analizarse un control de PBS para confirmar que el conjugado no tiñe el substrato de antígeno de manera inespecífica. Si el antígeno presenta una fluorescencia brillante en el control de PBS, repita el análisis usando conjugado nuevo. Si el antígeno sigue presentando fluorescencia, el problema puede estar en el conjugado o en el antígeno.
- Sujete el portaobjetos por los bordes, ya que la presión directa sobre los pocillos puede estropear el antígeno.
- Una vez iniciado el procedimiento, no deje que el antígeno de los pocillos se seque. Esto podría dar falsos negativos o producir artefactos innecesarios.

Interpretación del título:

El título es la dilución más alta de suero del paciente que muestra una fluorescencia débil (1+).

Menor de 1:20	Normal descarta virtualmente la existencia de LES activo, siempre que el paciente no esté bajo terapia inmunosupresora o en remisión.
1:20 - 1:80	Prueba positiva, se da a menudo en la AR y otras enfermedades del tejido conectivo. Las muestras frescas deben probarse antes de dos semanas. Si el título aumenta, indica LES activo. Si no hay cambio en el título, puede haber otra enfermedad autoinmune en estado estático, un caso de LES tratado y controlado u otro proceso autoinmune.
1:160 o mayor	Sugiere claramente LES, aunque hay otras enfermedades autoinmunes y fármacos que pueden inducir estos títulos elevados.

Resultados:

ANA: los resultados positivos se observan en forma de uno de los cuatro patrones básicos de tinción vistos individualmente o en diversas combinaciones. Los patrones característicos se ven mejor cuando se observan bajo objetivos de alto aumento en seco.

- Homogéneo (difuso) - Se observa una fluorescencia uniforme, finamente difusa en todo el núcleo.
- Periférico (en el borde, filamentosos) - La fluorescencia de la membrana nuclear es más intensa que la del área central.
- Moteado - Numerosas "motas" pequeñas de fluorescencia por todo el núcleo.
- Nucleolar - Los nucleolos se tiñen uniformemente y aparecen como de 1 a 5 grandes áreas esféricas de fluorescencia dispersas por el núcleo.

Precauciones:

- Todos los componentes humanos han sido probados mediante radioinmunoensayo para (HBsAg) y HTLVIII/LAV con un método aprobado por la FDA, y han dado resultados negativos (no repetidamente reactivos). No obstante, esto no garantiza la ausencia de HBsAg o HTLVIII/LAV. Todos los componentes humanos deben manipularse con las debidas precauciones.
- Los controles y el conjugado contienen Proclin (0,045%).
- No utilice ningún componente que haya sobrepasado la fecha de caducidad.
- Para garantizar la validez de los resultados, siga las instrucciones del procedimiento exactamente como aparecen aquí.
- Para uso diagnóstico in vitro.

Prélevement des échantillons :

Intitulé du test:

Screening anticorps anti-tissulaires Autoscreen I et Autoscreen II par IFI

Application:

Le test d'immunofluorescence indirecte est destiné au screening des autoanticorps anti-nucléaires, anti-mitochondries, anti-cellules pariétales, anti-muscle lisse et anti-réticuline circulant dans le sérum de patients.

Principe:

La principale réaction du test implique des anticorps circulant dans le sérum du patient qui s'attachent à leurs antigènes homologues. Ceci se produit pendant la période d'incubation alors que le sérum recouvre la surface de l'antigène. Une réaction secondaire suit alors une période de rinçage qui élimine tous les anticorps humains libres. Le réactif utilisé lors de la réaction secondaire est un conjugué d'anti-globuline humaine marquée à la fluorescéine. La surface de l'antigène est ensuite soigneusement rincée pour éliminer l'excès de conjugué libre, et visualisée sous un microscope à fluorescence adapté.

Matériel fourni:

Conservation et stabilité des composants

1. Rat ou souris (rein estomac) (conserver entre 2 et 8 °C)
2. Rat ou souris (foie rein estomac) (conserver entre 2 et 8 °C)
3. Contrôle mitochondries positif
4. Contrôle autoanticorps anti-nucléaires positif homogène (conserver entre 2 et 8 °C).
5. Contrôle autoanticorps anti-muscle lisse positif (conserver entre 2 et 8 °C).
6. Contrôle négatif universel (conserver entre 2 et 8 °C).
7. Conjugué ITCF anti-IgG H&L (conserver entre 2 et 8 °C), ou
8. Conjugué ITCF anti-IgG H&L au bleu d'Evans (conserver entre 2 et 8 °C).
9. Sachet de tampon N° 1601 - Tampon phosphate salin (tampon reconstitué qui ne contient pas d'agents conservateurs et doit être conservé à 2-8 °C).
10. Le milieu de montage ITCF N° 1610 est stable lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C

Matériel supplémentaire requis mais non fourni:

Tubes à essai et portoir ou plaques de microtitration
 Pipettes jetables.
 Bac de coloration et pincettes pour lames
 Chambre humide
 Ballon volumétrique (500 ml)
 H₂O distillée
 Microscope à fluorescence
 Serviettes en papier (non pelucheuses)

Préparation des réactifs:

1. Sachet de tampon N° 1601. Réhydrater le tampon avec 1 litre d'eau distillée stérile.

Prélevement des échantillons :

Les échantillons de sang doivent être prélevés dans des conditions aseptiques. Une hémolyse est évitée par une séparation rapide du sérum du caillot. Le sérum doit être conservé à 2-8 °C en cas d'analyse prévue dans un délai de quelques jours. On peut garder le sérum pendant 3 à 6 mois en le conservant à une température maximale de -20 °C. Éviter les sérums lipémiques et extrêmement hémolytiques. Lorsque les échantillons sont expédiés à température ambiante, l'ajout d'un agent conservateur tel que 0,01 % (thimérosal) ou 0,095 % d'azide de sodium est fortement conseillé.

Instructions du test:

Test de screening: diluer les sérums du test à 1:20 dans du PBS

Titrages: préparer des dilutions sérielles du sérum à partir de 1:20 (à savoir, 1:10 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, etc.)

1. Une fois les lames parvenues à température ambiante, ouvrir le conditionnement des lames en le déchirant à l'encreuse. Retirer la lame avec soin et éviter de toucher les parties où se situent les antigènes. La lame est maintenant prête à l'emploi.
2. Déposer une goutte de sérum dilué (20 à 30 µl) et des contrôles sur les puits contenant les antigènes.
3. Placer la lame comportant le sérum du patient et les contrôles dans une chambre humide à température ambiante pendant 30 minutes (environ 24 °C).
4. Enlever la lame de la chambre humide et la tapoter sur le côté pour permettre au sérum de s'écouler sur un morceau de serviette en papier. À l'aide d'une pissette, rincer délicatement le reste de sérum de la lame en prenant soin de détourner le jet de rinçage du puits.
5. Laver dans du PBS pendant cinq minutes. Répéter l'opération en utilisant du PBS frais.
6. Placer un buvard sur la table de laboratoire avec le côté absorbant tourné vers le haut. Retirer la lame du PBS et la retourner de manière à placer le côté frottis en face du côté absorbant du papier buvard. Aligner les puits pour absorber le contenu des trous à l'aide du buvard. Placer la lame sur le buvard. Ne pas laisser les tissus sécher. Essuyer le dos de la lame avec une serviette en papier sèche et non pelucheuse. Exercer suffisamment de pression sur la lame tout en l'essuyant pour absorber le tampon.
7. Déposer 1 goutte (20 à 30 µl) de conjugué dans chaque puits. Répéter les étapes 3 à 6.
8. Déposer 4 à 5 gouttes de milieu de montage sur la lame.
9. Déposer une lamelle couvre-objet de 22 x 70 mm. Examiner la lame sous un microscope à fluorescence.
Remarque: Pour maintenir la fluorescence, conserver la lame montée dans une chambre humide placée à l'obscurité dans un réfrigérateur.

Contrôle de qualité:

1. Des contrôles de sérum positif et négatif doivent être inclus dans chaque série pour confirmer la reproductibilité, sensibilité et spécificité du mode opératoire du test.
2. Le contrôle de sérum négatif devrait faire apparaître peu (+) ou pas de fluorescence. La mise en évidence d'une fluorescence vive par ce contrôle peut résulter du contrôle, de l'antigène, du conjugué ou de la technique.
3. Le contrôle de sérum positif devrait être à l'origine d'une fluorescence vive de 3+ à 4+. La mise en évidence d'une fluorescence faible ou inexistante par ce contrôle peut résulter

du contrôle, de l'antigène, du conjugué ou de la technique.

4. En plus des contrôles de sérum positif et négatif, effectuer un contrôle au PBS pour s'assurer que le conjugué ne provoque pas de coloration non spécifique du substrat antigénique. Si l'antigène montre une fluorescence vive avec le contrôle au PBS, répéter l'opération à l'aide d'un nouveau conjugué. Une fluorescence continue de l'antigène peut résulter du conjugué ou de l'antigène.

Interprétation de titre:

Le titre est la dilution de sérum de patients la plus élevée qui montre une faible (1+) fluorescence.

Inférieur à 1:20 à normal Exclut pratiquement le LED actif à condition que le patient ne soit pas sous thérapie immuno-suppressive ou en rémission.

De 1:20 à 1:80 Test positif fréquemment observé dans le cas de la PR et celui d'autres maladies des tissus conjonctifs. Tester un nouvel échantillon *endéans les deux semaines*. Une augmentation du titre suggère un LED évolutif. L'absence de changement de titre indique une autre maladie auto-immune possible *non évolutive*, un LED traité et *stabilisé* ou un autre processus d'auto-immunisation.

1:160 ou supérieur Suggère fortement un LED bien que d'autres maladies auto-immunes et médicaments puissent induire ces titres élevés.

Résultats:

Autoanticorps anti-nucléaires: On observe diverses images appartenant aux 4 familles classiques mais pouvant être associées.

Homogène (diffus): On voit une fluorescence homogène, légèrement diffus du noyau entier.

1. Périphérique (bord, irrégulière): La membrane nucléaire est d'une fluorescence plus intense que la partie centrale.
2. Mouchetée: De nombreuses petites « taches » de fluorescence sur l'ensemble du noyau.
3. Nucléolaire: Les nucléoles sont colorés de manière uniforme et se *présentent* sous forme de 1 à 5 larges zones sphériques de fluorescence dispersées sur l'ensemble du noyau.

Précautions:

1. Le HBsAg et le HTLV-III/LAV ont été testés par dosage radioimmunologique pour tous les composants d'origine humaine, par une méthode approuvée par la FDA, et se sont avérés négatifs. Ceci ne garantit toutefois pas l'absence de HBsAg ou de HTLV-III/LAV. Tous les composants d'origine humaine doivent être manipulés avec les précautions appropriées.
2. Les contrôles et le conjugué contiennent du Proclin (0,045%).
3. Ne pas utiliser les composants après leur date de péremption.
4. Suivre les instructions de la méthode exactement comme elles figurent dans cette notice afin de garantir des résultats valables.
5. Réserve au diagnostic in vitro.
6. Manipuler les lames par les bords car une pression appliquée directement sur les puits contenant les antigènes peut altérer l'antigène.

7. Une fois la procédure lancée, ne pas laisser sécher les antigènes des puits. Ceci peut entraîner l'obtention de résultats faussement négatifs ou l'apparition d'artéfacts superflus.

Deutsch

Testtitel:

IFT Autoimmun-Screeningtest Autoscreen I und Autoscreen II

Verwendungszweck:

Der indirekte Immunofluoreszenztest wird als Screeningtest für zirkulierende antinucleare (ANA), mitochondriale (MA), Parietalzellen- (PCA), Glatte-Muskel- (SMA) und Retikulino-Antikörper im Patientenserum empfohlen.

Prinzip:

Die primäre Testreaktion erfasst im Serum des Patienten zirkulierende Antikörper, die sich an ihre homologen Antigene anlagern. Dies findet in der Inkubationszeit statt, während das Serum die Antigenoberfläche bedeckt. Auf einen Auswaschvorgang, in dem alle ungebundenen humanen Antikörper entfernt werden, folgt eine sekundäre Reaktion. Das in der sekundären Reaktion verwendete Reagens ist ein fluoresceinmarkiertes Antihumanglobulinkonjugat. Die Antigenoberfläche wird danach vollständig von ungebundenem Konjugat freigespült und unter einem geeigneten Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

Bereitgestellte Materialien:

Lagerung und Stabilität von Komponenten

1. Ratte oder Maus (Niere-, Magen-Gewebeschnitte) (bei 2-8 °C lagern)
2. Ratte oder Maus (Leber-, Niere-, Magen-Gewebeschnitte) (bei 2-8 °C lagern)
3. MA Positivkontrolle
4. ANA homogene Positivkontrolle (bei 2-8 °C lagern)
5. SMA Glatte-Muskulatur-Positivkontrolle (bei 2-8 °C lagern)
6. Universelle Negativkontrolle (bei 2-8 °C lagern)
7. FITC IgG H&L Konjugat (bei 2-8 °C lagern), oder
8. FITC IgG H&L Konjugat mit Evans-Blau (bei 2-8 °C lagern)
9. Pufferpackung Nr. 1601 – Phosphatgepufferte Salzlösung (rekonstituierter Puffer enthält keine Konservierungsmittel und sollte bei 2-8 °C gelagert werden).
10. FITC Einbettungsmittel Nr. 1610 lässt sich bei 2-8 °C stabil lagern.

Weitere erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien:

Reagenzgläser und Gestell- oder Mikrotitersystem
Einmalgebrauchspipetten
Färbeschale und Objektträgerpinzetten
Feuchtkammer
Messkolben (500 ml)
Destilliertes H₂O
Fluoreszenzmikroskop
Nichtfasernde Papiertücher

Reagenzvorbereitung:

1. Pufferpackung Nr. 1601. Puffer mit 1 Liter sterilem destilliertem Wasser rehydratisieren.

Probenahme:

Serologische Proben sollten unter aseptischen Bedingungen genommen werden. Hämolyse wird durch umgehende Trennung des Serums vom Koagulat vermieden. Serum sollte bei 2-8 °C gelagert werden, wenn es innerhalb weniger Tage analysiert werden soll. Serum lässt sich bei -20 °C oder darunter 3 bis 6 Monate lang lagern. Lipämisches und stark hämolytisches Serum sollte vermieden werden. Wenn Proben bei Raumtemperatur bereitgestellt werden, wird die Zugabe eines Konservierungsmittels wie 0,01% (Thimerosal) oder 0,095% Natriumazid sehr empfohlen.

Testanweisung:

Screening: verdünnen Sie Testsera 1:20 in PBS.

Titrationen: setzen Sie die Serumverdünnungen in jeweils zweier Verdünnungsstufen an, beginnend bei 1:20 (d. h. 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 usw.)

1. Wenn die Objektträger Raumtemperatur erreicht haben, reißen Sie die Objektträgerhülle an der Kerbe auf. Entnehmen Sie den Träger vorsichtig, ohne die Antigenbereiche zu berühren. Der Objektträger ist nun einsatzbereit.
 2. Geben Sie jeweils einen Tropfen gelöstes Serum (20 bis 30 µl) und Kontrolle auf die Antigenkavitäten.
 3. Legen Sie den Objektträger mit dem Patientenserum und den Kontrollen 30 Minuten lang in eine Feuchtkammer bei Raumtemperatur (ungefähr 24 °C).
 4. Nehmen Sie den Objektträger aus der Feuchtkammer, und lassen Sie das Serum auf ein Stück Papiertuch ablaufen, indem Sie seitlich auf den Träger tippen. Spülen Sie verbleibende Sera mit einer Waschflasche vom Objektträger, wobei Sie sorgfältig darauf achten, den Spülstrahl nicht direkt auf die Kavität zu richten.
 5. Fünf Minuten in PBS waschen. Wiederholen Sie den Vorgang mit frischem PBS.
 6. Legen Sie ein Löschblatt auf den Labortisch, mit der absorbierenden Seite nach oben. Nehmen Sie den Objektträger aus dem PBS und drehen Sie ihn um, so dass die Gewebeseite der absorbierenden Seite des Löschblatts zugewandt ist. Richten Sie die Kavitäten auf die Löschblättlöcher aus. Legen Sie den Objektträger auf die Löschblattoberseite. Das Gewebe darf nicht austrocknen. Wischen Sie die Trägerrückseite mit einem nichtfasernden Papiertuch ab. Üben Sie beim Abwischen zum Absorbieren des Puffers genügend Druck auf den Objektträger aus.
 7. Geben Sie 1 Tropfen (20-30 µl) Konjugat auf jede Antigenkavität. Wiederholen Sie die Schritte 3-6.
 8. Geben Sie 4-5 Tropfen Einbettungsmittel auf den Objektträger.
 9. Setzen Sie ein Deckglas von 22 x 70 mm auf. Untersuchen Sie den Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop. **Hinweis:** Um die Fluoreszenz aufrechtzuerhalten, lagern Sie den präparierten Objektträger in einer Feuchtkammer in einem dunklen Kühlschrank.
- ### Qualitätskontrolle:
1. Positive und negative Serumkontrollen müssen täglich beim Testen einbezogen werden, um die Reproduzierbarkeit, Empfindlichkeit und Spezifität der Testprozedur zu bestätigen.
 2. Die negative Serumkontrolle sollte zu geringer (+) oder ausbleibender Fluoreszenz führen. Sollte sich bei dieser Kontrolle helle Fluoreszenz zeigen, ist die Kontrollprobe, das

- Antigen, das Konjugat oder die Vorgehensweise möglicherweise fehlerhaft.
- Die positive Serumkontrolle sollte zu heller Fluoreszenz von 3+ bis 4+ führen. Sollte sich bei dieser Kontrolle geringe oder keine Fluoreszenz zeigen, ist die Kontrollprobe, das Antigen, das Konjugat oder die Vorgehensweise möglicherweise fehlerhaft.
 - Zusätzlich zu positiven und negativen Serumkontrollen sollte eine PBS-Kontrolle durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass das Konjugat frei von unspezifischer Färbung des Antigensubstrats ist. Wenn das Antigen bei der PBS-Kontrolle helle Fluoreszenz zeigt, wiederholen Sie mit frischem Konjugat. Wenn das Antigen noch immer fluoresziert, ist das Konjugat oder das Antigen möglicherweise fehlerhaft.

Titer-Interpretation:

Der Titer ist die höchste Verdünnung von Patientenserum, bei der sich schwache Fluoreszenz (1+) zeigt.

Weniger als 1:20

Negativ: schließt aktive SLE praktisch aus, vorausgesetzt, der Patient befindet sich nicht in immunsuppressiver Therapie oder in Remission.

1:20 - 1:80

Positiver Test, der häufig bei RA und anderen Bindegewebskrankheiten vorkommt. Nach zwei Wochen sollte eine frische Probe getestet werden. Zunehmender Titer lässt auf aktive SLE schließen. Unveränderter Titer zeigt mögliche andere Autoimmunkrankheit in statischem Zustand oder einen behandelten und kontrollierten SLE-Fall oder einen anderen Autoimmunprozess an.

1:160 oder darüber

Positiv: Starker Hinweis auf SLE, auch wenn andere Autoimmunkrankheiten und Medikamente diese hohen Titer hervorrufen können.

Ergebnisse:








ANA: Ein Ergebnis ist positiv, wenn eines der vier grundlegenden Fluoreszenzmuster einzeln oder in verschiedenen Kombinationen auftreten. Die charakteristischen Muster lassen sich am besten mit stark vergrößerten Trockenobjektiven beobachten.

- Homogen (diffus) – Es zeigt sich eine gleichmäßige, fein verteilte Fluoreszenz des gesamten Nucleus.
- Peripher (randständig, zottig) – Die Nucleusmembran fluoresziert intensiver als der zentrale Bereich.
- Gefleckt – Zahlreiche kleine "Flecken" von Fluoreszenz über den gesamten Nucleus.
- Nucleolär – Die Nucleoli sind gleichmäßig gefärbt und erscheinen als 1 bis 5 große kugelförmige Fluoreszenzbereiche, die über den Nucleus verstreut sind.

Vorsichtsmaßnahmen:

- Alle humanen Bestandteile wurden mit Radioimmuntest auf (HBsAg) und HTLVIII/LAV mit einer FDA-anerkannten Methode negativ getestet. (Nicht wiederholt reaktiv.) Dies gewährleistet jedoch nicht die Abwesenheit von HBsAg oder HTLVIII/LAV. Alle humanen Bestandteile sollten mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.
- Den Kontrollproben und dem Konjugat ist Proclin (0,045%) beigefügt.

- Verwenden Sie keine Bestandteile über das Verfallsdatum hinaus.
- Befolgen Sie die methodischen Anweisungen genau wie in dieser Beilage beschrieben, um gültige Ergebnisse zu gewährleisten.
- Die Tests sind für die diagnostische Verwendung *in vitro* bestimmt.
- Fassen Sie die Objektträger an den Kanten an, da direkter Druck auf die Antigenkavitäten das Antigen beschädigen kann.
- Nach Beginn der Prozedur darf das Antigen in den Kavitäten nicht austrocknen. Dies kann zu falsch negativen Testergebnissen oder unnötigen Artefakten führen.

 <p>Manufactured by Prodotto da Fabricado por Fabriqué par hergestellt von</p>	 <p>Potential biological risk Potenziale rischio biologico Riesgo potencial biológico Biohazard Potentielle biologische Gefährdung</p>
<p>REF</p> <p>Catalog number Número de catálogo Número de Catálogo Numero de catalogue Katalognummer</p>	<p>RFU</p> <p>Ready for use Pronto all'uso Listo para su uso Prêt à l'emploi Gebrauchsfertig</p>
<p>LOT</p> <p>Lot Lotto Lote Lot Charge</p>	<p>10x</p> <p>Concentration Concentrazione Concentración Concentration Konzentration</p>
<p>EC REP</p> <p>EC Authorized Representative Representante Autorizzato CE Representante Autorizado CE CE Représentant autorisé EG autorisierter Bevollmächtigter</p>	<p>WASHB</p> <p>Wash Buffer Tampone di lavaggio Tampón de lavado Tampón de lavage Waschpuffer</p>
<p>CE</p> <p>EC Declaration of Conformity Dichiarazione di Conformità CE Declaración de Conformidad CE CE Déclaration de Conformité EG Konformitätserklärung</p>	<p>DIL</p> <p>Sample Diluent Diluente del campione Diluyente de muestra Tampón de dilution Probenverdünnungslösung</p>
<p></p> <p>Number of tests Numero di test Número de determinaciones Nombre de tests Anzahl der Tests</p>	<p>MPS 12x8</p> <p>Microplate Strips Strip per Microplacra Tiras de micro placa Microplaque Mikrotiterplattenstreifen</p>
<p></p> <p>See instructions for use Vedere le istruzioni per l'uso Consultar la instrucciones de uso Voir instructions Arbeitsanleitung beachten</p>	<p>CONJ IgG</p> <p>Conjugate Coniugato Conjugado Conjugué Konjugat</p>
<p></p> <p>Expiration date Data di scadenza Caducidad Date d'Expiration Halbbarkeitsdatum</p>	<p>SUB</p> <p>Substrate Substrato Sustrato Substrat Substrat</p>
<p></p> <p>Store at 2-8°C / 35-46°F Conservare a 2-8°C/35-46°F Almacenar a 2-8°C / 35-46°F Conserver à 2-8°C Bei 2-8°C / 35-46°F lagern</p>	<p>STOP</p> <p>Stop Solution Soluzione bloccante Solución de Parada Solution d'arrêt Stopplösung</p>
<p></p> <p>Caution Attenzione Precaución Précautions Achtung</p>	<p>CAL X</p> <p>Calibrator(s) Calibratore (i) Calibrador (s) Calibrateur(s) Kalibrator(en)</p>
<p>IVD</p> <p>For in vitro diagnostic use Per uso diagnostico in vitro Para uso solo in vitro Usage in vitro Für in-vitro diagnostische Verwendung</p>	<p>CONTROL -</p> <p>Negative Control Controllo Negativo Control Negativo Contrôle négative Negative Kontrolle</p>
<p>RUO</p> <p>For research use only Solo per ricerca Para uso solo en investigación Pour recherche Nur für Forschungszwecke</p>	<p>CONTROL +</p> <p>Positive Control Controllo Positivo Control Positivo Contrôle positif Positive Kontrolle</p>
<p>IUO</p> <p>For investigational use only Solo per uso investigativo Para uso solo en investigación Pour investigation Nur für Forschungszwecke</p>	<p>IFA/DFA PBS</p> <p>Phosphate Buffered Saline Tampone salino fosfato Fosfato Salino Tamponado Tampón phosphate salin PBS</p>

ENS	Enhancement Solution Soluzione di rinforzo Solución de realce Solution d'amplification Verstärkungslösung
SOR	Sorbent Assorbente Sorbente Absorbant Sorbens
SLIDE	Tissue Substrate Slide Vetrini con substrato di tessuto Porta objetos de Sustrato de Tejido Lame portant le substrat tissulaire Gewebesubstrat-Objektträger
MM	Mounting Medium Mezzo di montaggio Medio de Montaje Liquide de montage Eindeckmedium
CONJ CNS	Counterstain Colorante di contrasto Contraste Contrecolorant Gegenfärbung
CS	Coverslip Coprioggetto Cubre portaobjetos Lamelles couvre-objet Deckgläschen
CONJ +	Positive Conjugate Coniugato Positivo Conjugado Positivo Conjugué Positif Positivekonjugat
CONJ -	Negative Conjugate Coniugato Negativo Conjugado Negativo Conjugué Négatif Negativkonjugat



SCIMEDX CORPORATION
400 Ford Road
Denville, NJ 07834 USA
Tel: 800.221.5598 Tel: 973.625.8822
Fax: 973.625.8796
www.scimedx.com



Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
The Netherlands