

MBL

CE

MESACUP DNA-II TEST “SS”

Cat. No. 7450E: 96 wells
Cat. No. 7450E: 96 puits
Art.-Nr. 7450E: 96 Auftragsstellen
Cat. No. 7450E: 96 pocillos
Cat. n. 7450E: 96 pozzetti
Cat. N° 7450E: 96 ποços
Αρ. Κατ. 7450E: 96 βυθισμάτων

MBL MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD.

5-10 Marunouchi 3 chome, Naka-ku, Nagoya, 460-0002 Japan

Tel: +81 52-971-2081 Fax : +81 52-971-2337 URL <http://www.mbl.co.jp>

- CONTENTS -
- CONTENU -
- INHALTSVERZEICHNIS -
- CONTENIDO -
- CONTENUTI -
- CONTENDO -
- ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ -

English	1
Français	
Deutsch	9
Español	
Italiano	17
Português	
Ελληνικά	
Symbols/Symboles/Symbole/Símbolos /Simboli/ Simbolos/Σύμβολα/	26

English

INTENDED USE

The MESACUP DNA-II TEST “ss” is the quantitative enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of anti single-stranded (ss) DNA antibodies in human serum. The MESACUP DNA-II TEST “ss” is intended for in vitro diagnostic use as an aid in the determination of certain autoimmune diseases.

SUMMARY AND EXPLANATION

Anti-nuclear antibodies are found in autoimmune disease such as SLE. Among them, anti-DNA antibodies are characteristic for SLE, therefore, it is drawing wide attention as an agent to increase the accuracy of diagnosis. In recent studies, there are several reports from immunoglobulin class-wise measurement of anti-ssDNA antibodies that indicate its clinical availability. Particularly, Aotsuka et al. reported that anti-ssDNA antibodies in IgG class showed a significantly higher value in sera of SLE than in sera of others and correlated well with lupus urinary abnormality, and there were patients with SLE in active period that had anti-ssDNA antibodies in IgG class increased before turning to active period. So that the determination of both anti-ssDNA and anti-dsDNA antibodies in IgG class is of value for diagnosis and in making prognosis of this disease.

The MESACUP DNA-II TEST “ss” is for measuring anti ssDNA antibodies present in the serum by ELISA.

PRINCIPLE

The MESACUP DNA-II TEST “ss” measures anti-ssDNA antibodies present in the serum by ELISA. Standards and patient sera are added to microwell coated with ssDNA antigen, allowing anti-ssDNA antibodies to react with the immobilized antigen (Sample incubation). After wash to remove any unbound serum proteins, horseradish peroxidase conjugated anti human IgG monoclonal antibody (mouse) is added and incubated (Conjugate incubation). Following another washing step, the peroxidase substrate is added and incubated for an additional period of time (Substrate incubation). Acid solution is then added to each well to terminate the enzyme reaction and to stabilize the color development. The assay can be quantified by measuring the reaction photometrically and plotting the results.

BRIEF ASSAY PROCEDURE

<Sample incubation> (20-25°C) 60 min.	Add 100 µl of diluted sample (1:101) to each well of microwell plate ↓ Wash ↓
<Conjugate incubation> (20-25°C) 60 min.	Add 100 µl of conjugate solution to each well ↓ Wash ↓
<Substrate incubation> (20-25°C) 30 min	Add 100 µl of substrate to each well ↓ Add 100 µl of stop solution to each well

↓
Read absorbance
↓
Interpretation of result

REAGENTS AND STORAGE

1) MICROWELL STRIPS

96 wells MICROWELL STRIPS (8 x 12 wells) coated with bacteriophage λ DNA as antigen, the breakaway strips packaged in a strip holder and sealed in a foil envelope with desiccant, are stable at 2-8°C until the labeled expiration date.

2) ANTI-ssDNA STANDARD SERUM (6 standards)

One vial containing 1.5 ml each of anti-ssDNA antibody positive human serum, BSA, MOPS and 0.1 % sodium azide. Anti ss-DNA concentration of each standard is on each label. Ready to use, make no further dilution. Stable at 2-8°C until labeled expiration date.

3) CONJUGATE REAGENT (101X)

One vial containing 0.3 ml of horseradish peroxidase conjugated mouse anti-human IgG (γ chain specific) monoclonal antibody, HEPES, Proclin 150 and BSA as 101X concentrate. Stable at 2-8 °C until labeled expiration date.

4) CONJUGATE DILUENT*

One bottle containing 24ml of MOPS, Proclin 150, Tween 20 and BSA.

5) ASSAY DILUENT*

Two bottles containing 50mL of MOPS, Tween 20 and 0.1% sodium azide. Ready to use. Stable at 2-8°C until labeled expiration date.

6) WASH CONCENTRATE (10X) *

One 100 ml bottle containing PBS and Tween-20 as a 10X concentrate. Stable at 2-8°C until labeled expiration date.

7) SUBSTRATE SOLUTION (A) *

One 10 ml bottle of 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine(TMB), Dimethylformamide, Sodium Citrate and Polyethylene Glycol 4000.

8) SUBSTRATE SOLUTION (B) *

One 10mL bottle of Citric Acid Monohydrate and Hydrogen Peroxide(H₂O₂).

9) STOP SOLUTION*

One 20 ml bottle containing 1.5 N Phosphoric Acid. Ready to use. Stable at 2-8°C until labeled expiration date.

10) POSITIVE CONTROL SERUM

Two vials containing 0.35 ml each of lyophilized anti-ssDNA antibody positive human serum. Stable at 2-8°C until labeled expiration date.

11) NEGATIVE CONTROL SERUM

One vial containing 1.5 ml of anti-ssDNA antibody negative human serum with 0.1% sodium azide. Ready to use. Stable at 2-8°C until labeled expiration date.

*Those reagents can also be used for MESACUP DNA-II TEST “ds”.

PRECAUTIONS

- (1) This product is for in vitro diagnostic use only.
- (2) Do not use kit components beyond the stated expiration dates.
- (3) Avoid contact of reagents with eyes, skin and clothing. Reagents on skin must be washed away with plenty of water. TMB contains irritant and Stop Solution consists of a 1.5N Phosphoric acid, which is a corrosive.
- (4) Standards, Positive and Negative Controls are derived from human serum, in which HBs antigen, HCV antibody HIV-1 and HIV-2 antibodies has not been detected. No test method, however, can guarantee the absence of these or any other infectious agents. These reagents and all patient samples should be handled as if they are capable of transmitting AIDS, hepatitis or any other infectious diseases.
- (5) Standards, Negative Control and Assay Diluent contain sodium azide (0.1%) as a preservative and must be handled with caution - do not ingest or allow contact with skin or mucous membranes. Sodium azide may react with copper or lead in plumbing system to form explosive metal azides. Therefore, always flush with plenty of water when disposing materials containing sodium azide into a drain.
- (6) Some kit components contain animal origin materials, which are from non-infectious animals. These components, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
- (7) Substrate A contains dimethylformamide which can irritate eyes and skin. Avoid inhalation, ingestion and contact with skin and eyes.
- (8) Matching lot numbers of MICROWELL STRIPS, Standards must be used together in the assay. Do not substitute reagents from other kits.
- (9) All reagents must be brought to room temperature (20 -25°C) before starting the assay.
- (10) Do not expose the kit to direct sun during assay and storage.
- (11) Avoid microbial and cross contamination of reagents or samples.
- (12) Incubation temperatures above or below normal room temperature (20-25°C), shorter or longer time periods of incubation and inaccurate dilution may give erroneous results.
- (13) The wells must be rinsed with Wash Solution properly enough to avoid false positive.
- (14) Carefully pipette not to foam each sample and reagent to avoid cross contamination between microwells.
- (15) All microwell strips, which are not immediately required, should be returned to the zip lock pouch, which must be carefully resealed to avoid moisture absorption.
- (16) Wash concentrate may become turbid at 2-8°C, which does not cause inconsistent results.
- (17) Implement used for the test should be disposed or treated as shown below.

Soak in 2% final conc. glutaraldehyde solution for more than 1 hour or soak in 0.5% Sodium hypochlorite solution (available chlorine: approx. 5000ppm) for more than 1 hour or autoclave at 121°C for more than 20 minutes.

- (18) The ssDNA antibodies values obtained from this assay are an aid to diagnosis only. Each physician must interpret these results in light of the patient's history, physical findings, and other diagnostic procedure.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Microplate reader (wavelength: 450 nm, 620 nm/reference)
- Multichannel micropipette (e.g. 100 µl - 300 µl) for dispensing conjugate, substrate, and stop solution.
- Single channel pipette (10 µl & 100 µl)
- Reagent reservoir
- Autowasher or wash bottle
- Deionized or distilled water
- One liter graduated cylinder for preparation of wash solution
- Test tubes for patient sample dilutions (e.g. 1000 µl)
- Disposable pipette tips
- Paper towels
- Basin and disinfectant
- Microplate cover

PROCEDURE

■ PREPARATION OF REAGENTS

- Bring all assay materials to room temperature (20-25°C) prior to use.
- Microwell Strips: Remove required microwell strip from pouch and place them in the frame. Promptly return unused strips to refrigerated storage.
- Positive Control: Dissolve the Positive Control by adding 0.35mL of deionized water.
 - * The diluted Positive Control should be stored at -20°C and used within one week.
 - * Do not repeat freezing and thawing.
- Wash Solution: Prepare 1:10 dilution of The Wash Concentrate prior to use.(ex. add 100 ml of Wash Concentrate to 900 ml of distilled water). The diluted wash solution is stable for 2 weeks at 2 -8°C.
- Conjugate Solution: The conjugate reagent must be diluted prior to use. Dilute Conjugate Reagent 1: 100 with Conjugate Diluent. (ex. add 0.1mL of Conjugate Reagent to 9.9mL of Conjugate Diluent.)
- Substrate: Just before substrate incubation, mix equal volumes of Substrate A and B together in a fresh clean container.
- Do not dilute Standards, Negative Control, Assay Diluent and Stop Solution, which are ready-to-use.

■ PREPARATION OF SAMPLES

- Dilute each patient serum 1:101 by adding 10µl of serum to 1mL of Assay Diluent.
 - *Diluted samples may be stored up to 3 days if refrigerated.
 - *Diluted samples can be also used for MESACUP DNA-II TEST "ds"
- Use fresh patient sera. If storage is needed, they should be frozen below -20°C for up to one month, below -70°C for longer storage. Do not repeat freezing and thawing.
 - *In case stored below -20°C for more than 6 months or freezing and thawing repeatedly, nonspecific results are obtained because of IgG denaturation.

■ ASSAY PROCEDURE

STEP 1. (SAMPLE INCUBATION)

Using the multi-channel pipetor, transfer 100µl of Standards, each diluted sample, Positive and Negative Controls into the appropriate microwells of the antigen test plate.

- * Incubation starts on pipetting to the antigen-coated microwells. Pipetting should be completed as quickly as possible.

Cover wells with a plate sealer and incubate for 60 minutes at room temperature (20-25 °C).

STEP 2. (WASHING)

Aspirate or discard the well contents. Fill the well with Wash Solution and then completely aspirate or discard the contents. Wash 4 times. Tap the plate on a paper towel to remove any remaining Wash Solution. When autowasher is used, wash 4 times.

- * Each laboratory is recommended to confirm its own appropriate washing times and set-up.
- * Wash Solution should be used at 20-25 °C.

STEP 3. (CONJUGATE INCUBATION)

Pour Conjugated Reagent into a reservoir. Add 100 µl of the Conjugated Reagent to each well with multichannel pipette. Cover wells with the plate sealer and incubate for 60 minutes at room temperature (20-25°C).

STEP 4. (WASHING)

Wash the microplate following the STEP 2 procedure.

STEP 5. (SUBSTRATE INCUBATION)

Pour Substrate into a reservoir and pipette 100 µl of the Substrate to each well with multichannel pipette.

- * The reservoir should be different from the one, which was used for pouring conjugate solution. A new disposable reservoir should be used because Substrate is easily oxidized by metal ion.
- * The Substrate, once poured in a reservoir, should not be returned to the bottle.

Cover wells with the plate sealer and incubate for 30 minutes at room temperature (20-25°C).

STEP 6. (STOP REACTION)

Pour Stop Solution into a reservoir. Pipette 100 µl of the solution to each well with multichannel pipette.

■ READING

Read the absorbance of each well at 450 nm. If a dual wave length plate reader is available, set the test wavelength at 450 nm and the reference at 620 nm.

- * Reading should be done as quickly as possible after stopping the reaction.
- * Ensure that the bottom of the plate is clean and dry, and that no air bubbles are present on the surface of the liquid in the wells before reading the plate.

■ CALCULATION OF RESULT

Calculate the mean absorbance value of each standard and plot against log standard concentration on suitable graph paper. The concentration of the samples can then be read from the standard curve. Alternatively a suitable computer and curve-fitting program may be used.

- *An international reference material for anti-ssDNA antibody is not available. The assay is calibrated in relative arbitrary units.

■ QUALITY CONTROL

Each assay result should meet the following criteria.

A_{450} of anti-ssDNA Standard-1: ≤ 0.090

A_{450} of anti-ssDNA Standard-6: ≥ 1.200

The Positive and Negative Controls must give the following results:

	Positive Control	Negative Control
Anti-ssDNA value (AU/ml)	≥ 60	< 25

If any of these are not met, the results are invalid and the test should be repeated.

Before repeating assay, check the following procedure.

- Incubation Temperature
- Incubation Period of Time
- Washing

TEST INTERPRETATION AND EXPECTED VALUES

The following is intended only as a guide for interpretation. Each laboratory is recommended to establish its own criteria for test interpretation based on sample populations typically encountered.

Anti-ss value (AU/ml)	Interpretation
< 25	Negative for anti-ssDNA Ab
Greater than or equal to 25	Positive for anti-ssDNA Ab

* The above value was determined with 500 serum samples of normal healthy donors.

■ LIMITATIONS

As with other diagnostic test procedures, the results obtained with the MESACUP DNA-II TEST “ss” serve only as an aid to diagnosis and should not be interpreted as diagnostics in themselves.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

■ CLINICAL SPECIFICITY AND SENSITIVITY

Disease	Positive sample	Positive rate
MCTD	6/11	54.5%
SLE	60/70	85.7%
SjS	5/40	12.5%
SSc	3/10	30.0%
Normal Serum	5/190	2.6%

MCTD: Mixed connective tissue disease

SLE: Systemic lupus erythematosus

SjS: Sjögren's Syndrome

SSc: Systemic sclerosis

■ PRECISION

Repeatability was demonstrated by testing 3 samples in sextuple. Reproducibility was determined by testing 3 samples on 5 different days (day-to-day) and by testing 3 samples in 3 lots (lot-to-lot). %CV

values for reproducibility and repeatability were below 15% for each sample.

■ **ASSAY RANGE**

The assay range of this kit is up to 800AU/ml.

■ **INTERFERING SUBSTANCES**

Hemoglobin (up to 500 mg/dl) and/or Bilirubin (up to 20.0mg/dl) are not affective on the assay result, but avoid using highly hemolysed samples or highly lipemic samples.

REFERENCES

1. E.J. Ter Borg et al, Arthritis and Rheumatism, 33(5), 634-643 (1990).
2. D.A. Isenberg et al, Annals of the Rheumatic Diseases, 46, 448-456 (1987)
3. R.T. Wold et al, Science, 161, 806-815 (1968)
4. R.Smeenk et al, J. Immunol, 128, 73-78 (1982)
5. R. Smeenk, Immunoassay Technology, 2, 145-166 (1986)

Français

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

MESACUP DNA-II TEST „ss“ ist ein quantitativer Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zur Bestimmung von Autoantikörpern gegen Einzelstrang (ss) DNS in Humanserum. Der MESACUP DNA TEST „ss“ dient zum Einsatz in-vitro als Hilfestellung bei der diagnostischen Abklärung gewisser Autoimmunerkrankungen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Antinukleäre Autoantikörper kommen bei zahlreichen Autoimmunerkrankungen, wie beim SLE vor. Zu ihnen zählen auch Autoantikörper gegen DNS. Sie gelten als charakteristisch für einen SLE und werden auch gezielt in der Diagnostik dieser Erkrankung eingesetzt. Mehrere Studien haben in jüngster Zeit auf die mögliche klinische Wertigkeit von ss-DNS-Autoantikörpern der verschiedenen Immunglobulin-Klassen hingewiesen. Insbesondere Aotsuka et al. haben von deutlich höheren ssDNS-Autoantikörper-Spiegeln der Klasse IgG in Seren von SLE-Patienten im Vergleich zu anderen Seren berichtet. Die Spiegel korrelierten mit SLE-bedingten pathologischen Harnbefunden und bei einigen Patienten wurde ein Schub durch einen Anstieg der IgG-Autoantikörperspiegel gegen ssDNS angekündigt. Die Bestimmung dieser Autoantikörper ist daher zusammen mit der Bestimmung von dsDNS-IgG-Autoantikörpern eine Hilfestellung zur Diagnose und Prognose eines SLE.

MESACUP DNA-II TEST „ss“ ist ein ELISA zur Bestimmung von Autoantikörpern gegen ssDNS in Humanserum.

TESTPRINZIP

Mit MESACUP DNA-II TEST „ss“ werden Autoantikörper gegen ssDNS in Serum mittels ELISA bestimmt. Die Standards und Patientenseren werden den mit ssDNS beschichteten Vertiefungen in einer Mikrotiterplatte hinzugefügt. Im Folgenden reagieren die Autoantikörper mit dem ssDNS-Antigen an der Festphase (Probeninkubation). Nach einem Waschschrift, zur Entfernung nicht gebundener Serumproteine, werden mit Meerrettichperoxidase markierte monoklonale Mausantikörper gegen Human-IgG hinzugefügt. Im Folgenden reagieren sie mit den an der Festphase gebundenen ssDNS-Antikörpern (Konjugatinkubation). Nach einem zweiten Waschschrift wird das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Es folgt die Substratinkubation. Dann wird Säure in die Vertiefungen gegeben, um die Enzymreaktion abzustoppen und die Farbentwicklung zu stabilisieren. Anschließend werden die Vertiefungen photometriert und die Ergebnisse in quantitativen Einheiten ermittelt.

KURZFASSUNG DER TESTDURCHFÜHRUNG

	In jede Vertiefung einer Mikrotiterplatte
	100 µl verdünnte Probe (1:101) hinzufügen
<Probeninkubation>	
(20-25 °C) 60 Min.	↓
	Waschen
	↓
<Konjugatinkubation>	In jede Vertiefung 100 µl Konjugat geben
(20-25°C) 60 Min.	↓
	Waschen

↓

<Substratinkubation> In jede Vertiefung 100 µl Substrat geben
(20-25 °C) 30 Min. ↓

↓

In jede Vertiefung 100 µl Stopplösung geben

↓

Photometrieren

↓

Ergebnisse auswerten

REAGENZIEN UND IHRE LAGERUNG

1) MIKROTITERSTREIFEN

12 Mikrotiterstreifen mit jeweils 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar, beschichtet mit λDNS aus Bakteriophagen als Antigen. Die Streifen mit Halterahmen sind in einem Folienbeutel mit Trockenmittel verpackt. Sie sind bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach dem Öffnen können nicht benötigte Streifen im wieder versiegelten Beutel bei 2-8 °C für 60 Tage gelagert werden.

2) Anti-ssDNA STANDARD SERUM (6 Standards)

Jedes Fläschchen enthält 1,5 ml Humanserum, positiv für Autoantikörper gegen ssDNS , BSA, MOPS und 0,1% Natriumazid. Der Antikörpergehalt steht auf dem Fläschchenetikett. Gebrauchsfertig. Darf nicht verdünnt werden. Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

3) KONJUGAT (101x)

Jedes Fläschchen enthält 0,3 ml mit Meerrettichperoxidase markierte monoklonale Mausantikörper gegen Human-IgG (γ-Ketten-spezifisch), HEPES, Proclin 150 und BSA. Konzentrat (101x). Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

4) KONJUGATDILUENT*

Eine Flasche (24 ml) mit MOPS, Proclin 150, Tween 20 und BSA.

5) PROBENDILUENT*

Zwei Flaschen (50 ml) mit MOPS, Tween 20 und 0,1% Natriumazid. Gebrauchsfertig. Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

6) KONZENTRIERTE WASCHLÖSUNG (10X) *

Eine Flasche (100 ml) mit PBS und Tween 20; Konzentrat (10x). Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

7) SUBSTRATLÖSUNG A*

Eine Flasche (10 ml) mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin-Dihydrochlorid (TMB), Dimethylformamid, Natriumcitrat und Polyäthylenglykol 4000.

8) SUBSTRATLÖSUNG B*

Eine Flasche (10 ml) Citronensäure-Monohydrat und Wasserstoffperoxid (H₂O₂).

9) STOPPLÖSUNG*

Eine Flasche (20 ml) mit 1,5 N Phosphorsäure. Gebrauchsfertig. Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

10) POSITIVES KONTROLLSERUM (lyophilisiert)

Zwei Fläschchen mit für ssDNS-Autoantikörper positivem Humanserum. Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

11) NEGATIVES KONTROLLSERUM

Ein Fläschchen mit 1,5 ml Humanserum, ssDNS-Autoantikörper-negativ. Enthält 0,1% Natriumazid. Bei 2-8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

*Diese Reagenzien können auch im MESACUP DNA-II TEST „ds“ verwendet werden.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- (1) Nur für *in-vitro* Diagnostik.
- (2) Die Bestandteile eines Testkits nicht über ihr Verfallsdatum hinaus verwenden.
- (3) Berührung der Reagenzien mit Augen, Haut und Bekleidung vermeiden. Bei Berührung mit der Haut sofort mit viel Wasser spülen. TMB ist ein Reizmittel und die Stopplösung enthält 1,5 N Phosphorsäure, einen ätzenden Stoff.
- (4) Die Standards, positiven und negativen Kontrollseren sind aus Humansen hergestellt, die mit negativem Ergebnis auf HBs-Antigen, HCV- sowie HIV 1 und HIV 2-Antikörper untersucht wurden. Indes kann kein Testverfahren gewährleisten, dass diese oder andere infektiöse Erreger nicht vorhanden sind. Diese Reagenzien und alle Patientenproben sollten daher so behandelt werden, als könnten sie AIDS, Hepatitis oder andere Infektionskrankheiten übertragen.
- (5) Die Standards, das negative Kontrollserum und der Probendiluent enthalten Natriumazid (0,1%) als Konservierungsstoff. Sie müssen mit Vorsicht behandelt werden. Nicht einnehmen und nicht mit Haut und Schleimhäuten in Berührung bringen. Natriumazid kann mit Kupfer- oder Bleirohren unter Ausbildung explosiver Metallazide reagieren. Falls Natriumazid-haltige Lösungen in den Abguss entsorgt werden, sollte daher mit viel Wasser gespült werden.
- (6) Einige Bestandteile des Kits enthalten Materialien aus nicht-infizierten Tieren. Trotzdem sollten diese Bestandteile als potentiell biogefährlich gehandhabt und entsorgt werden.
- (7) Die Substratlösung A enthält Dimethylformamid, ein für Augen und Haut reizend wirkender Stoff. Einatmen, Einnehmen und Berührung mit Haut und Augen vermeiden.
- (8) Nur die Mikrotiterstreifen zusammen mit den Standards aus Kits der gleichen Charge verwenden. Die Reagenzien aus unterschiedlichen Kits nicht gegenseitig austauschen.
- (9) Vor Gebrauch müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20-25 °C) gebracht werden.
- (10) Während der Lagerung und Testdurchführung den Kit und seine Reagenzien vor der Sonne schützen.
- (11) Reagenzien und Proben vor Verunreinigung durch Mikroorganismen und gegenseitigen Kontakt schützen.
- (12) Entgegen den Empfehlungen in der Testanleitung veränderte Inkubationstemperaturen, Inkubationszeiten und Verdünnungen können die Ergebnisse verfälschen.
- (13) Die Vertiefungen müssen sorgfältig mit der Waschlösung gewaschen werden, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden.
- (14) Beim Pipettieren der Proben und Reagenzien Schaumbildung vermeiden, um einer Verschleppung auf benachbarte Vertiefungen vorzubeugen.

- (15) Nicht benötigte Mikrotiterstreifen müssen sofort wieder in den Folienbeutel gelegt und dieser sorgfältig versiegelt werden, damit kein Kondenswasser gebildet wird.
- (16) Das Waschlösungskonzentrat kann bei 2-8 °C trüb werden. Für die Ergebnisse ist das unerheblich.
- (17) Im Test benutzte Gefäße etc. sollten wie folgt behandelt werden:
 1 Stunde in eine Glutaraldehyd-Lösung (2 % Endkonzentration) legen oder länger als 1 Stunde mit einer 0,5%igen Natriumhypochloritlösung (verfügbarer Chlorgehalt ca. 5000 ppm) behandeln oder länger als 20 Minuten bei 121 °C autoklavieren.
- (18) Die mit diesem Test ermittelten ssDNS-Antikörperspiegel sind nur als Hilfestellung zur Diagnosefindung zu betrachten. Bei der Beurteilung der Ergebnisse muss der Arzt die anamnestische Erhebung, die Befunde der körperlichen Untersuchung und die Daten anderer diagnostischer Verfahren berücksichtigen.

BENÖTIGTE, ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

- Mikrotiterplatten Reader (Wellenlänge: 450 nm, 620 nm/Referenzfilter)
- Multikanalpipette (100 µl – 300 µl) zum Pipettieren von Konjugat, Substrat und Stopplösung.
- Pipette für 10 µl und 100 µl
- Gefäße für Reagenzien
- Waschgerät oder Spritzflasche
- Entionisiertes oder destilliertes Wasser
- Messzylinder (1 Liter) zur Herstellung der Waschlösung
- Röhrchen für die Probenverdünnungen (1000 µl)
- Einmal-Pipettenspitzen
- Papierhandtücher
- Schüssel und Desinfektionsmittel
- Klebefolie

TESTDURCHFÜHRUNG

■ HERSTELLUNG DER REAGENZIEN

- Vor Gebrauch alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur (20-25 °C) bringen.
- Mikrotiterstreifen: Benötigte Streifen dem Folienbeutel entnehmen und im Halterahmen verankern. Beutel mit den nicht benötigten Streifen sofort wieder versiegeln und im Kühlschrank aufbewahren.
- Positivkontrolle: Die Positivkontrolle mit 0,35 ml Aqua dest. rekonstituieren.
 - * Die rekonstituierte Positivkontrolle sollte bei –20 °C gelagert werden. Sie ist dann 1 Woche haltbar.
 - * Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.
- Waschlösungskonzentrat 1:10 verdünnen (z.B. 100 ml Waschlösungskonzentrat in 900 ml Aqua dest. geben). Die gebrauchsfertige Waschlösung ist 2 Wochen bei 2-8 °C haltbar.
- Konjugatlösung: Das Konjugat muss vor Gebrauch 1:100 mit dem Konjugatdiluent verdünnt werden (z.B. 0,1 ml Konjugat und 9,9 ml Konjugatdiluent).
- Substrat: Unmittelbar vor der Substratinkubation gleiche Teile Substratlösung A und Substratlösung B in ein sauberes Gefäß geben und mischen.
- Standards, Negativkontrolle, Probediluent und Stopplösung sind alle gebrauchsfertig. Sie dürfen nicht verdünnt werden.

■ HERSTELLUNG DER PROBEN

- Die Patientenseren 1:101 verdünnen (z.B. 10 µl Serum in 1 ml Probendiluent pipettieren).
 - * Die verdünnten Seren können 3 Tage im Kühlschrank gelagert werden.
 - * Die verdünnten Seren können auch im MESACUP DNA-II TEST "ds" eingesetzt werden.
- Wenn möglich, sollten frisch gewonnene Patientenseren verwendet werden. Sie können einen Monat bei -20 °C oder länger bei -70 °C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.
 - * Wiederholtes Einfrieren und Auftauen oder Lagerung bei -20 °C über einen längeren Zeitraum als 6 Monate kann die Ergebnisse verfälschen, weil IgG in den Proben denaturiert wird.

■ TESTABLAUF

1. SCHRITT (PROBENINKUBATION)

Von den Standards, verdünnten Patientenseren, positiven und negativen Kontrollseren jeweils 100 µl in die dafür vorgesehenen Vertiefungen der Mikrotiterstreifen pipettieren.

- * Das Pipettieren sollte zügig durchgeführt werden, damit sich die Inkubationszeiten für die einzelnen Vertiefungen sich nicht allzu sehr unterscheiden.

Streifen mit Klebefolie abdecken und 60 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubieren.

2. SCHRITT (WASCHEN)

Inhalt in den Vertiefungen absaugen oder auskippen. Mit Waschlösung füllen und vollständig absaugen oder auskippen. Insgesamt viermal waschen. Abschließend Streifen gegen Papierhandtücher ausklopfen, um die letzten Reste an Waschlösung zu entfernen. Bei Einsatz eines automatischen Waschgeräts viermal waschen.

- * Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Waschzeiten und -bedingungen festlegt.
- * Die Waschlösung sollte vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-25 °C) gebracht werden.

3. SCHRITT (KONJUGATINKUBATION)

Gebrauchsfertige Konjugatlösung in eine Wanne geben. Mit einer Multikanalpipette 100 µl Konjugat in jede Vertiefung pipettieren. Mit Klebefolie abdecken und 60 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubieren.

4. SCHRITT (WASCHEN)

Die Streifen wie im 2. SCHRITT beschrieben waschen.

5. SCHRITT (SUBSTRATINKUBATION)

Gebrauchsfertige Substratlösung in eine Wanne geben. Mit einer Multikanalpipette 100 µl in jede Vertiefung pipettieren.

- * Nicht die selbe Wanne wie jene für das Konjugat verwenden. Am besten eignet sich eine neue Einwegwanne, weil das Substrat leicht durch Metallionen oxidiert wird.
- * Ggf. in der Wanne übrig gebliebenes Substrat darf nicht in die Substratflasche zurückgeführt werden.

Mit Klebefolie abdecken und 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubieren.

6. SCHRITT (ABSTOPPEN)

Die Stopplösung in eine Wanne geben. Mit einer Multikanalpipette 100 µl in jede Vertiefung pipettieren.

■ PHOTOMETRIEREN

Die Extinktion jeder Vertiefung bei 450 nm messen. Bei Verwendung eines Photometers mit zwei Wellenlängen erfolgt die Extinktionsmessung bei 450 nm, die Referenzmessung bei 620 nm.

- * Die Vertiefungen sollten sofort nach dem Abstoppen photometriert werden.
- * Die Unterseite der Streifen muss sauber und trocken sein. Die Vertiefungen dürfen beim Photometrieren keine Luftblasen enthalten.

■ BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Den mittleren Extinktionswert der einzelnen Standards berechnen und gegen den Logarithmus der Standardkonzentration auf Millimeterpapier auftragen. Die Konzentration der Proben kann auf der Standardkurve abgelesen werden. Alternativ kann eine Standardkurve auch mit Hilfe eines entsprechenden Programms per Computer gezeichnet und können die Proben ausgewertet werden.

- * Da eine internationale Referenzpräparation für ssDNS-Antikörper nicht verfügbar ist, ist der Test in relativen arbiträren Einheiten kalibriert.

■ QUALITÄTSKONTROLLE

Bei jedem Testansatz müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

A_{450} vom anti-ssDNA Standard-1: $\leq 0,090$

A_{450} vom anti-ssDNA Standard-6: $\geq 1,200$

Die positiven und negativen Kontrollseren müssen folgende Ergebnisse zeigen:

	Positivkontrolle	Negativkontrolle
Anti-ssDNS-Wert (U/ml)	≥ 60	< 25

Wird einer dieser Werte nicht erreicht, sind die Ergebnisse ungültig. Der Testlauf sollte wiederholt werden. Ehe der Testlauf wiederholt wird, sind folgende Parameter der Testdurchführung zu überprüfen:

- Inkubationstemperatur
- Inkubationszeiten
- Waschverfahren

BEURTEILUNG DER ERGEBNISSE UND ERWARTETE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur der Orientierung. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Grenzwerte auf der Grundlage der von ihm betreuten Patientenpopulationen erstellt.

Anti-ssDNS-Wert (IU/ml)	Beurteilung
< 25	Negativ für ssDNS-Ak
≥ 25	Positiv für ssDNS-Ak

- *Der oben aufgeführte Grenzwert wurde anhand von 500 Seren von gesunden Probanden erstellt.

■ GRENZEN DES VERFAHRENS

Wie bei anderen diagnostischen Verfahren, so sind die mit MESACUP DNA-II TEST „ss“ ermittelten Ergebnisse nur eine Hilfestellung bei der Diagnostik und nicht diagnostisch an sich zu werten.

LEISTUNGSMERKMALE**■ KLINISCHE SPEZIFITÄT UND SENSITIVITÄT**

Erkrankung	Positive Proben	Positivrate
MCTD	6/11	54,5%
SLE	60/70	85,7
SjS	5/40	12,5%
SSc	3/10	30,0%
Normalkollektiv	5/190	2,6%
MCTD: Mischkollagenose; SLE: systemischer Lupus erythematodes		
SjS: Sjögren-Syndrom; SSc: Systemsklerose		

■ PRÄZISION

Zur Bestimmung der Präzision wurden 3 Proben in sechsfacher Bestimmung getestet: an 5 verschiedenen Tagen (Präzision von Tag zu Tag) und mit 3 verschiedenen Chargen (Präzision in der Serie). Die Werte der Variationskoeffizienten (% VK) lagen bei sämtlichen Proben unter 15%.

■ MESSBEREICH

Der Messbereich dieses Kits erstreckt sich bis 800 U/ml.

■ INTERFERENZEN

Hämoglobin (bis 500 mg/dl) und Bilirubin (bis 20,0 mg/dl) beeinträchtigen die Testergebnisse nicht. Stark hämolytische und stark lipämische Proben sollten aber vermieden werden.

LITERATUR

1. E.J. Ter Borg et al, Arthritis and Rheumatism, 33(5), 634-643 (1990).
2. D.A. Isenberg et al, Annals of the Rheumatic Diseases, 46, 448-456 (1987)
3. R.T. Wold et al, Science, 161, 806-815 (1968)
4. R.Smeenk et al, J. Immunol, 128, 73-78 (1982)
5. R. Smeenk, Immunoassay Technology, 2, 145-166 (1986)

Español

Italiano

USO PREVISTO

MESACUP DNA-II TEST «ss» è un kit immunoenzimatico (ELISA) quantitativo per il rilevamento di anticorpi anti singolo strand (ss) DNA nel siero umano.

MESACUP DNA-II TEST «ss» è previsto per uso diagnostico in vitro e come aiuto nella determinazione di certe malattie autoimmuni.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

In malattie autoimmuni come il SLE si ritrovano anticorpi anti-nucleo. Fra di essi, gli anticorpi anti-DNA sono caratteristici di SLE, quindi devono essere presi in grande considerazione come elementi in grado di aumentare l'accuratezza della diagnosi. Sono stati riportati diversi studi recenti sulla determinazione delle classi immunoglobuliniche degli anticorpi anti-ssDNA, che indicano la loro distribuzione clinica. Particolarmente, Aotsuka et al. riferiscono che gli anticorpi anti-ssDNA di classe IgG mostrano un titolo significativamente più elevato in sieri SLE piuttosto che in sieri di pazienti con altre malattie autoimmuni, e che correlano bene con anomalie urinarie del lupus; riferiscono inoltre che ci sono pazienti con SLE in fase attiva, che hanno fatto registrare incremento degli anticorpi anti-ssDNA di tipo IgG prima di passare alla fase attiva. Perciò la ricerca degli anticorpi anti-ssDNA e anti-dsDNA della classe IgG assume importanza per la diagnosi e la prognosi di questa malattia.

MESACUP DNA-II TEST «ss» è il reagente per la misura attraverso ELISA degli anticorpi anti ssDNA presenti nel siero.

PRINCIPIO

MESACUP DNA-II TEST «ss» misura attraverso ELISA gli anticorpi anti-ssDNA presenti nel siero.

Gli Standards ed i sieri di paziente sono aggiunti ai pozzetti sensibilizzati con antigene ssDNA, consentendo agli anticorpi anti-ssDNA di reagire con l'antigene immobilizzato (Incubazione del Campione). Dopo i lavaggi per rimuovere ogni non legata proteina del siero, un anticorpo monoclonale (in topo) anti IgG umane coniugato con horseradish perossidasi viene aggiunto (Incubazione del Coniugato). Dopo un altro step di lavaggio, il substrato perossidasi viene aggiunto ed incubato per un ulteriore periodo di tempo (Incubazione del Substrato). La soluzione acida viene quindi aggiunta ad ogni pozzetto per stoppare la reazione enzimatica e stabilizzare lo sviluppo del colore. Il dosaggio può essere quantificato misurando la reazione fotometrica e riportando su carta i risultati.

BREVE DESCRIZIONE DEL METODO

<Incubazione del Campione>	Aggiungere 100µl di campione diluito (1:101) ad ogni pozzetto della piastra microtiter.
(20-25°C) 60 min.	↓
	Lavare
	↓
<Incubazione del Coniugato>	Aggiungere 100µl di Coniugato ad ogni pozzetto.
(20-25°C) 60 min.	↓
	Lavare
	↓

8) SUBSTRATO SOLUZIONE B*

Un flacone contenente 10 ml di Acido Citrico Monoidrato e Perossido di Idrogeno (H₂O₂)

9) SOLUZIONE BLOCCANTE*

Un flacone contenente 20ml di 1.5N acido fosforico. Pronto all'uso..

Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata.

10) SIERO DI CONTROLLO POSITIVO

Due flaconi contenenti ognuno 0.35 ml di siero umano liofilo positivo per gli anticorpi anti-ss DNA. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata.

11) SIERO DI CONTROLLO NEGATIVO

Un flacone contenente 1.5 ml di siero umano negativo per gli anticorpi anti-ss DNA con 0.1% sodioazide. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata.

* Questi reagenti possono essere impiegati anche nel kit MESACUP DNA-II TEST "ds".

PRECAUZIONI PER L'USO

- (1) Questo prodotto è per solo uso diagnostico in vitro.
- (2) Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza riportata per ognuno.
- (3) Evitare il contatto dei reagenti con gli occhi, la pelle e gli indumenti. Se i reagenti vengono a contatto con la pelle, lavare immediatamente con acqua in abbondanza. TMB contiene sostanze irritanti e la Soluzione bloccante è composta da acido solforico 1N, velenoso e corrosivo.
- (4) Standards, Controllo Negativo e Diluente del test derivano da siero umano negativo per l'antigene HBs, gli anticorpi HIV (HIV-1 ed HIV-2) e gli anticorpi anti HCV. Peraltro nessun test può garantire in maniera certa l'assenza di questi od altri agenti infettivi, dunque i reagenti e tutti i campioni dei pazienti devono essere trattati come potenzialmente capaci di trasmettere malattie infettive note (AIDS, HCV etc) o sconosciute.
- (5) Standards, Controllo Negativo e Diluente del Test contengono come conservante 0.1% sodio azide, dunque essi devono essere maneggiati con cura (non ingerire o far venire a contatto con mucose o pelle). La sodioazide può reagire con rame o piombo per formare azidi metalliche esplosive. Quindi, diluire con abbondante acqua prima di smaltire.
- (6) Alcune componenti dei kits contengono materiali di origine animale, derivanti da animali non infetti. Queste componenti dovrebbero essere trattate come pericolose per la salute sia al momento dell'uso che a quello dello smaltimento.
- (7) Il Substrato A contiene dimetilformamide che può irritare occhi e pelle. Evitare inalazione, ingestione e contatto con occhi e pelle.
- (8) Per effettuare il test devono essere usati componenti (Strips di pozzetti, Coniugato e Calibratore 2) contrassegnati dallo stesso numero di lotto. Non sostituire singoli reagenti con reagenti provenienti da altri kits.
- (9) Tutti i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (20-25°C) prima di iniziare il test.
- (10) Non esporre il kit alla diretta luce del sole durante l'esecuzione del test e la conservazione.
- (11) Evitare inquinamento batterico e cross contaminazione dei reagenti o dei campioni.
- (12) Tempi di incubazione al di sopra o al di sotto della temperatura ambiente (20-25°C), periodi di incubazione più brevi o lunghi e non precise diluizioni possono dare comportare errori nei risultati.
- (13) I pozzetti devono essere lavati con Soluzione di Lavaggio accuratamente per evitare false positività.

- (14) Pipettare accuratamente senza provocare schiuma ogni campione e reagente per evitare cross contaminazione da pozzetto a pozzetto.
- (15) Se non immediatamente richiesto, tutte le strips devono essere riposte nella busta ed accuratamente sigillate per evitare assorbimento di umidità.
- (16) La Soluzione concentrata di Lavaggio può divenire torbida a 2-8°C, ma questo non causa danni al test.
- (17) Materiali impiegati per il test devono essere trattati come segue:
Bagnare in soluzione 2% Glutaraldeide per più di 1 ora
o in soluzione 0.5% Sodio Ipoclorito per più di 1 ora
o autoclavare a 121°C per più di 20 minuti.
- (18) Il valore di anticorpi anti DNA ss ottenuto da questo test è solo un aiuto per la diagnosi. Ogni medico deve interpretare i risultati alla luce della storia clinica del paziente, delle osservazioni cliniche e di ogni altra indagine diagnostica.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Lettore di micropiastre (lunghezza d'onda : 450nm, 620 nm/riferimento)
- Micropipetta multicanale (100µl – 300µl)
- Micropipetta a singolo canale (10µl & 100µl)
- Flaconi per reagenti
- Lavatore automatico o bottiglia per lavaggio
- Acqua deionizzata o distillata
- Cilindri graduati da 1 litro per la preparazione della Soluzione di Lavaggio
- Provette per la diluizione dei campioni dei pazienti (1000µl)
- Puntali usa e getta per la micropipette
- Carta
- Catinella e disinfettante
- Coperchio per piastra microtiter

PROCEDURA

■ PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- Prima dell'uso portare tutti i materiali necessari al test a temperatura ambiente (20-25°C).
- Strips di micropozzetti: Rimuovere i pozzetti richiesti e piazzarli in apposito alloggio. Riporre prontamente nella busta le strips non richieste per la corretta conservazione refrigerata.
- Controllo Positivo: disciogliere il Controllo Positivo aggiungendo 0.35 ml di acqua deionizzata.
*Il Controllo Positivo ricostituito dovrebbe essere conservato a -20°C ed usato entro una settimana.
*Non ripetere congelamento e scongelamento.
- Soluzione di Lavaggio: La Soluzione concentrata deve essere diluita prima dell'uso 1:10 (ad es. aggiungendo 100ml di Soluzione concentrata a 900ml di acqua distillata). La Soluzione diluita è stabile per 2 settimane a 2-8°C.
- Coniugato: Il Coniugato deve essere diluito prima dell'uso, 1:100, con Diluente del Coniugato (ad es. 0.1 mL con 9.9 ml di diluente).
- Substrato: appena prima dell'incubazione, miscelare uguali volumi di Substrato A e B in un contenitore appena lavato.

- Non diluire gli Standards, il Controllo negativo, il Diluente del test e la soluzione bloccante che sono pronti all'uso.

■ PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Diluire ogni siero di paziente 1: 101 aggiungendo 10µl di siero a 1 ml di Diluente del Test.
 - *I campioni diluiti possono essere conservati sino a tre giorni se refrigerati.
 - *I campioni diluiti possono essere direttamente impiegati per MESACUPDNA-II TEST "ds".
- Usare sieri freschi di paziente. Se vi è necessità di conservazione, i sieri possono essere aliquotati e conservati congelati a -20°C fino ad un mese, a -70°C per più lunghi periodi. Non ripetere congelamenti e scongelamenti.
 - *In caso di conservazione a -20°C per più di 6 mesi o ripetuti congelamenti e scongelamenti, risultati non specifici possono essere ottenuti in conseguenza di denaturazione delle IgG.

■ PROCEDURA DEL TEST

FASE 1. (INCUBAZIONE DEL CAMPIONE)

Aggiungere con pipetta multicanale 100µl di Standards e di ogni campione diluito, dei Controlli Negativo e Positivo nei rispettivi pozzetti di piastre microtiter.

- * L'incubazione inizia quando il campione viene pipettato nel pozzetto. L'operazione deve essere completata nel più breve tempo possibile.

Coprire i pozzetti con un coperchio adesivo ed incubare a temperatura ambiente (20-25°C) per 60 minuti.

FASE 2. (LAVAGGIO)

Aspirare o scartare il contenuto dei pozzetti. Riempire ogni pozzetto con Soluzione di Lavaggio, quindi aspirare completamente o scartare il contenuto. Ripetere questa operazione di lavaggio 4 volte. Sbattere la micropiastra su un pezzo di carta per rimuovere ogni residuo di Soluzione di Lavaggio. Quando viene usato un lavatore automatico, lavare 4 volte.

- * Si raccomanda di stabilire per ogni laboratorio gli appropriati tempi di lavaggio e le altre condizioni.
- * La Soluzione di Lavaggio deve essere usata a 20-25°C.

FASE 3. (INCUBAZIONE DEL CONIUGATO)

Versare la Soluzione di Coniugato in un flacone. Aggiungere 100µl del Coniugato ad ogni pozzetto con micropipetta multicanale. Coprire i pozzetti con un coperchio sigillante ed incubare a temperatura ambiente (20-25°C) per 60 minuti.

FASE 4. (LAVAGGIO)

Lavare la micropiastra come nella Fase 2 precedentemente descritta.

FASE 5. (INCUBAZIONE DEL SUBSTRATO)

Versare il Substrato in un flacone. Aggiungere 100µl del Substrato ad ogni pozzetto con micropipetta multicanale.

- *Questo flacone deve essere diverso da quello usato per la Soluzione di Coniugato. Un nuovo flacone usa e getta deve essere usato, dato che il substrato tende facilmente ad essere ossidato da ioni metallo.

Coprire i pozzetti con un coperchio adesivo ed incubare a temperatura ambiente (20-25°C) per 30 minuti.

FASE 6. (REAZIONE BLOCCANTE)

Versare la Soluzione Bloccante in un flacone. Aggiungere 100µl della soluzione ad ogni pozzetto con

una micropipetta multicanale.

■ LETTURA

Leggere l'assorbanza di ogni pozzetto a 450nm.

Se è disponibile un lettore di micropiastre a doppia lunghezza d'onda, regolare la lunghezza d'onda per il test a 450nm ed il riferimento a 620nm.

*La lettura deve essere fatta prima possibile una volta bloccata la reazione.

*Prima della lettura della micropiastre, assicurarsi che il fondo della stessa sia pulito ed asciutto, e che non siano presenti sulla superficie del liquido contenuto nei pozzetti bolle d'aria.

■ CALCOLO DEI RISULTATI

Calcolare il valore medio di assorbanza di ogni standard e riportarlo su carta logaritmica contro la concentrazione. La concentrazione dei campioni dovrebbe risultare dalla curva standard. In alternativa può essere usato un computer con apposito programma di lettura della curva.

*Materiale di riferimento internazionale per anticorpi anti-ssDNA non è disponibile. Il dosaggio viene calcolato in unità arbitrarie.

■ CONTROLLO DI QUALITÀ

Ogni dosaggio dovrebbe rispettare i seguenti criteri.

A_{450} dello Standard-1 di anti-ssDNA : ≤ 0.090

A_{450} dello Standard-6 di anti-ssDNA : ≥ 1.200

I Controlli Positivi e Negativi devono dare i seguenti risultati:

	Controllo Positivo	Controllo Negativo
Anti-ss DNA valore (U/ml)	≥ 60	<25

Se qualcuno di questi criteri non viene rispettato, i risultati non sono validi ed il test dovrebbe essere ripetuto.

Prima della ripetizione del dosaggio, verificare i seguenti parametri.

- Temperatura di Incubazione
- Tempi di Incubazione
- Lavaggi

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E VALORI ATTESI

Questa che segue deve essere intesa solo come una guida all'interpretazione.

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca per l'interpretazione del dosaggio un suo proprio criterio basato su un campione di popolazione normalmente analizzato.

Anti-ss, valore (AU/ml)	Interpretazione
< 25	Negativo
Più grande di o uguale a 25	Positivo per Anticorpi Anti-ssDNA

* Il valore è stato determinato dall'analisi di 500 campioni di sieri di donatori sani normali.

■ LIMITAZIONI

Come ogni altro test diagnostico, i risultati ottenuti con MESACUP DNA-II TEST «SS»

Servono solo come aiuto nella diagnosi e non dovrebbero essere interpretati come di per sé diagnostici.

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

■ SPECIFICITA' CLINICA E SENSIBILITA'

Malattia	Campione	Percent. di Positività
MCTD	6/11	54.5%
SLE	60/70	85.7%
SjS	5/40	12.5%
SSc	3/10	30.0%
Siero Normale	5/190	2.6%

MCTD: malattia mista del tessuto connettivo, SLE: lupus sistemico eritematoso

SjS: sindrome di Sjogren, SSc: sclerosi sistemica

■ PRECISIONE

La ripetibilità è stata dimostrata analizzando 3 campioni in sestuplo. La riproducibilità è stata determinata analizzando 3 campioni in 5 giorni diversi (day to day) ed analizzando 3 campioni con 3 lotti (lot to lot). I valori di CV in percentuale per riproducibilità e ripetibilità sono stati inferiori al 15% per ogni campione.

■ RANGE DEL TEST

Il range del test di questo kit è fino a 800AU/ml.

■ SOSTANZE INTERFERENTI

Emoglobina (fino a 500 mg/dl) e/o Bilirubina (fino a 20.0mg/dl) non influiscono sui risultati del test, ma si eviti l'uso di campioni fortemente emolizzati o lipemici.

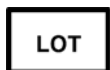
BIBLIOGRAFIA

1. E.J. Ter Borg et al, Arthritis and Rheumatism, 33(5), 634-643 (1990).
2. D.A. Isenberg et al, Annals of the Rheumatic Diseases, 46, 448-456 (1987)
3. R.T. Wold et al, Science, 161, 806-815 (1968)
4. R.Smeenk et al, J. Immunol, 128, 73-78 (1982)
5. R. Smeenk, Immunoassay Technology, 2, 145-166 (1986)

Português

Ελληνικά

**The following symbols are used on the label.
 **Les symboles suivants ont été utilisés sur l'étiquette.
 **Die folgenden Symbole finden Sie auf dem Etikett.
 **En las etiquetas se usan los siguientes símbolos
 **I seguenti simboli sono usati sulle etichette.
 **Os símbolos seguintes são usados no rótulo.
 **Τα κάτωθι σύμβολα χρησιμοποιούνται στην ετικέτα



-

For in vitro diagnostic use
 Dispositif médical de diagnostic in vitro
 Für in-vitro Diagnostik
 Para uso diagnóstico in vitro
 Per uso diagnostico in vitro
 Para diagnóstico *in vitro*
 Για in vitro διαγνωστική χρήση
 Catalogue number
 Référence du catalogue
 Artikelnummer
 Número de catálogo
 Numero di catalogo
 Número de catálogo
 Αριθμός Καταλόγου
 Lot
 Code du lot
 Charge
 Lote
 Lotto
 Lote
 Παρτίδα
 96 tests
 Contenu suffisant pour 96 tests
 96 Bestimmungen
 96 test
 96 tests
 96 testes
 96 εξετάσεις
 See instructions for use
 Consulter les instructions d'utilisation
 Siehe Packungsbeilage
 Ver instrucciones de uso
 Vedi Istruzioni per l'uso
 Ver instruções de utilização
 Δείτε τις οδηγίες χρήσης
 Use by
 Utiliser jusque
 Haltbarkeit
 Temperatura de uso
 Uso da
 Utilizar até
 Να χρησιμοποιηθεί έως
 Store at 2 – 8°C
 Limites de température : 2 à 8°C
 Lagerung bei 2 – 8°C
 Conservar a 2 – 8°C
 Conservare a 2 – 8°C
 Armazenar a 2 – 8°C
 Φύλαξη στους 2 – 8°C



EC REP

<ELISA Components>

MICROWELL

CAL 1

CAL 2

CONTROL +

CONTROL -

STD 1

Manufactured by
Fabricant
Hersteller
Fabricado por
Prodotto da
Produzido por
Παρασκευάστηκε από
Authorized Representative
Mandataire dans la Communauté européenne
Bevollmächtigter
Representane Autorizado
Rappresentante Autorizzato
Representante Autorizado
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος

Microwell Strips
Micro plaque
Mikrotiterstreifen
Tiras de pocillos
Strips di micropozzetti
Microplacas
Ταινίες Βυθισμάτων
Calibrator 1
Calibreur 1
Kalibrator 1
Calibrador 1
Calibratore 1
Calibrador 1
Αντιδραστήριο Βαθμονόμησης 1
Calibrator 2
Calibreur 2
Kalibrator 2
Calibrador 2
Calibratore 2
Calibrador 2
Αντιδραστήριο Βαθμονόμησης 2
Positive Control
Contrôle positif
Positivkontrolle
Contro Positivo
Controllo Positivo
Controlo Positivo
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου
Negative Control
Contrôle négatif
Negativkontrolle
Control Negativo
Controllo Negativo
Controlo Negativo
Αρνητικό Πρότυπο Ελέγχου
Standard Sera
Sérum Calibreur 1
Standardserum
Suero Patrón
Sieri standard
Soro Padrão
Πρότυποι Οροί Καμπύλης

CONJ-HRP

Conjugate Reagent
Conjugué (prêt à l'emploi)
Konjugatreagens
Reactivo Conjugado
Coniugato
Reagente conjugado

CONJ-HRP 101x

Αντιδραστήριο Συζεύγματος
Conjugate Reagent (101x)
Conjugué (101x)
Konjugatreagens (101x)
Reactivo Conjugado (101x)
Coniugato (101x)
Reagente Conjugado (101x)

CONJ DIL

Αντιδραστήριο Συζεύγματος 101x
Conjugate Diluent
Diluant conjugué
Konjugatdiluent
Diluyente del conjugado
Diluyente del Coniugato
Diluyente do Conjugado

ASSAY DIL

Διαλύτης Αντιδραστηρίου Συζεύγματος
Assay Diluent
Diluant sérum
Probendiluent
Diluyente de Ensayo
Diluyente del Test
Diluyente

WASH CONC 10x

Διαλύτης Ανάλυσης
Wash Concentrate (10x)
Solution de lavage (10x)
Waschkonzentrat (10x)
Solución de Lavado Concentrada (10x)
Soluzione di Lavaggio concentrata (10x)
Solução de Lavagem Concentrada (10x)
Συμπυκνωμένο Πλυστικό 10 x

SUBS

Substrate
Substrat
Substrat
Substrato
Substrato
Substrato

SUBS A

Υπόστρωμα
Substrate A
Substrat A
Substrat A
Substrato A
Substrato A
Substrato A
Υπόστρωμα A

SUBS B

Substrate B
Substrat B
Substrat B
Substrato B
Substrato B
Substrato B
Υπόστρωμα Β
Stop Solution
Solution d'arrêt
Stopplösung
Solución de Parada
Soluzione bloccante
Solução de Paragem
Διάλυμα Διακοπής Αντίδρασης

STOP SOLN

<IF Components>

SLIDE HEp-2

Hep-2 Cell Substrate Slide
Lames de Substrat Hep-2
HEp-2 Objektträger
Portas con sustrato de Células Hep-2
Cellule Hep-2 su vetrini come Substrato
Lâmina substrato Células HEp-2
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος HEp-2
Κυττάρων

SLIDE CL

Crithidia Luciliae Substrate Slide
Lames de Substrat Chritidia luciliae
Crithidia luciliae Objektträger
Portas con sustrato de Crithidia Luciliae
Crithidia Luciliae su vetrini come Substrato
Lâmina substrato Crithidia Luciliae
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος
Crithidia Luciliae

SLIDE KS

Rat stomach/ kidney Substrate Slide
Lames de Substrat Estomac/rein de rat
Rattenmagen/-niere Objektträger
Portas con sustrato de Estômago Rata/ Riñón
Stomaco/Rene di Ratto su vetrino come
Lâmina substrato Estomâgo/ Rim Rato
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος στομάχ
ου/ νεφρού αρουραίου

SLIDE KSL

Rat stomach/ kidney/ liver Substrate Slide
Lames de Substrat Estomac/rein/foie de rat
Rattenleber/-niere/-magen Objektträger
Portas con sustrato de Estômago Rata / Riñón/ H
ígado
Stomaco/Rene/Fegato di Ratto su vetrino come
Substrato
Lâmina substrato Estomâgo/ Rim/Fígado Rato
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος στομάχ
ου/ νεφρού/ήπατος αρουραίου

SLIDE Neutrophil-Et

Ethanol fixed neutrophil Substrate Slide
Lames de Substrat Neutrophile, fixées à l'éthanol
Objektträger mit Ethanol-fixierten neutrophilen
Granulozyten
Portas con sustrato de Neutrófilos fijados en
Neutrofili fissati in Etanolo su vetrino come
Lâmina substrato neutrófilos fixos etanol
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος ουδετε
ρόφιλων σταθεροποιημένων με αιθανόλη

SLIDE Neutrophil-Fo

Formalin fixed neutrophil Substrate Slide
Lames de Substrat Neutrophile, fixées à la
Objektträger mit Formalin-fixierten neutrophilen
Granulozyten
Portas con sustrato de Neutrófilos fijados en
Formalina
Neutrofili fissati in Formalina su vetrino come
Substrato

CONJ-FITC

Lâmina substrato neutrófilos fixos formol
Αντικειμενοφόρος Πλάκα Υποστρώματος ουδετε
ρόφιλων σταθεροποιημένων με φορμαλίνη

CAL

Conjugate
Conjugué
Konjugat
Conjugado
Coniugato
Conjugado
C-ANCA Θετικός Ορός Ελέγχου

DIL SOLN

Calibrator
Calibrateur
Kalibrator
Calibrador
Calibratore
Calibrador
Αντιδραστήριο Βαθμονόμησης

PBS

Diluent Solution
Diluent Solution
Verdünnungsmittel
Solución de Dilución
Soluzione Diluente
Solução Diluente
Διαλύτης Ανάλυσης

CONTROL +

PBS Buffer
Tampon PBS
PBS-Puffer
Ύαμρον PBS
Tamprone PBS
Ταμπρό PBS
Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών

CONTROL -

Positive Control
Sérum Contrôle Positif
Positivkontrolle
Control Positivo
Controllo Positivo
Controllo Positivo
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου
Negative Control
Sérum Contrôle Négatif
Negativkontrolle
Control Negativo
Controllo Negativo
Controllo Negativo
Αρνητικό Πρότυπο Ελέγχου

CONTROL AMA

AMA Positive Control
Sérum Contrôle Positif AMA
AMA Positivkontrolle
Control AMA Positivo
AMA Controllo Positivo
Controlo Positivo AMA

CONTROL ASMA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για AMA
ASMA Positive Control
Sérum Contrôle Positif ASMA
ASMA Positivkontrolle
Control ASMA Positivo
ASMA Controllo Positivo
Controlo Positivo ASMA

CONTROL APCA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για ASMA
APCA Positive Control
Sérum Contrôle Positif APCA
APCA Positivkontrolle
Control APCA Positivo
APCA Controllo Positivo
Controlo Positivo APCA

CONTROL ANA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για APCA
ANA Positive Control
Sérum Contrôle Positif ANA
ANA Positivkontrolle
ANA Positive Control
ANA Controllo Positivo
Controlo Positivo ANA

CONTROL C-ANCA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για ANA
C-ANCA Positive Control
Sérum Contrôle Positif C-ANCA
C-ANCA Positivkontrolle
Control C-ANCA Positivo
C-ANCA Controllo Positivo
Controlo Positivo C-ANCA

CONTROL P-ANCA

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για C-ANCA
P-ANCA Positive Control
Sérum Contrôle Positif P-ANCA
P-ANCA Positivkontrolle
Control P-ANCA Positivo
P-ANCA Controllo Positivo
Controlo Positivo P-ANCA

MOUNT

Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για P-ANCA
Mounting Medium
Milieu de Montage
Eindeckmittel
Medio de Montaje
Mezzo di Montaggio
Meio de Montagem
Υλικό Συγκόλλησης

COV SLIP

Cover Slip
Lamelles
Deckgläschen
Cubre Objetos
Vetrini Coprioggetto
Lamela
Καλυπτρίδα

BLOT PAPER

Blotting Paper
Papier absorbant
Löschpapier
Papel Secante
Carta Assorbente
Papel Absorvente
Στυπτικό Χαρτί

<DID Components>

GEL PLATE

Agarose Gel Plate
Gel d'agarose
Agarose Gelplatte
Placas de Gel de Agarosa
Piastrre di Gel di Agarosio
Placa de Gel de Agarose
Τρυβλίο γέλης αγαρόζης

ANTIGEN Sc

ENA Antigen
Antigène ENA
ENA-Antigen
ENA Antigeno
Antigene ENA
Antigénio ENA

ANTIGEN RNP/Sm

ENA Antigen for RNP/Sm
Antigène ENA RNP, Sm
ENA-Antigen für RNP/Sm
ENA Antigeno RNP/Sm
ENA Antigene RNP/Sm
Antigénio ENA para RNP/Sm

ANTIGEN SS-A

ENA Antigen for SS-A
Antigène ENA SS-A
ENA-Antigen für SS-A
ENA Antigeno SS-A
ENA Antigene SS-A
Antigénio ENA para SS-A

ANTIGEN SS-B

ENA Antigen for SS-B
Antigène ENA SS-B
ENA-Antigen für SS-B
ENA Antigeno SS-B
ENA Antigene SS-B
Antigénio ENA para SS-B

ANTIGEN Scl-70

ENA Antigen for Scl-70
Antigène ENA Scl-70
ENA-Antigen für Scl-70
ENA Antigeno Scl-70
ENA Antigene Scl-70
Antigénio ENA para Scl-70

ANTIGEN Jo-1

ENA Antigen for Jo-1
Antigène ENA Jo-1
ENA-Antigen für Jo-1
ENA Antigeno Jo-1
ENA Antigene Jo-1
Antigénio ENA para Jo-1
ENA Αντιγόνο για Jo-1

CONTROL RNP/Sm

RNP/Sm Positive Control
Contrôle positif RNP/Sm
RNP/Sm Positivkontrolle
Control Positivo RNP/Sm
Controllo Positivo RNP/Sm
Controllo Positivo RNP/Sm
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για RNP/Sm

CONTROL SS-A

SS-A Positive Control
Contrôle positif SS-A
SS-A Positivkontrolle
Control Positivo SS-A
Controllo Positivo SS-A
Controllo Positivo SS-A
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για SS-A

CONTROL SS-B

SS-B Positive Control
Contrôle positif SS-B
SS-B Positivkontrolle
Control Positivo SS-B
Controllo Positivo SS-B
Controllo Positivo SS-B
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για SS-B

CONTROL Scl-70

Scl-70 Positive Control
Contrôle positif Scl-70
Scl-70 Positivkontrolle
Control Positivo Scl-70
Controllo Positivo Scl-70
Controllo Positivo Scl-70
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για Scl-70

CONTROL Jo-1

Jo-1 Positive Control
Contrôle positif Jo-1
Jo-1 Positivkontrolle
Control Positivo Jo-1
Controllo Positivo Jo-1
Controllo Positivo Jo-1
Θετικό Πρότυπο Ελέγχου για Jo-1

SAMPLE DIL

Sample Diluent
Diluant échantillon
Probendiluent
Diluyente de Muestra
Diluyente del Campione
Diluyente da Amostra
Διαλυτής Ανάλυσης

Manufactured by:
Fabriqué par:
Hersteller:
Fabricado por:
Prodotto da:
Produzido por:
Παρασκευάστηκε από:

MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD.

5-10 Marunouchi 3-chome, Naka-ku, Nagoya 460-0002, JAPAN

Tel: +81 52-971-2081

Fax: +81 52-971-2337

Authorized Representative in the EU:
Mandataire dans la Communauté européenne:
Bevollmächtigter in der EU:
Representante autorizado en EU:
Rappresentante Autorizzato per l'Unione Europea:
Representante Autorizado na UE:
Εξουσιοδοτημένος Αντιπρόσωπος στην ΕΕ:

QARAD b.v.b.a.

Volmolenheide 13, 2400 Mol, Belgium

Rev. May 26, 2004
26/5/2004



Printing date: 3/4/2010