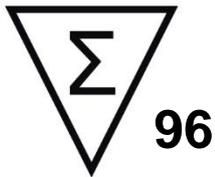


Istruzioni per l'uso

Microblot-Array ANA

REF ANAMA96



Kit per uso professionale

IVD **CE**

 **TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.**
Křižíkova 68, 612 00 Brno, Czech Republic
Tel.: +420 541 248 311
FAX: +420 541 243 390
E-mail: info@testlinecd.com
www.testlinecd.cz
www.testlinecd.com

INDICE

1	Aggiornamenti del documento	3
2	Uso previsto.....	4
3	Introduzione.....	4
4	Principio del test.....	5
5	Materiale fornito.....	5
6	Materiale necessario ma non fornito.....	6
7	Conservazione e stabilità.....	6
8	Preparazione dei campioni	7
9	Procedura del saggio	7
10	Validità del test	9
11	Interpretazione dei risultati	10
12	Prestazioni analitiche	19
13	Sicurezza sul lavoro	27
14	Note tecniche	28
15	Riferimenti.....	29
16	Simboli	30

1 Aggiornamenti del documento

Numero della modifica	Numero della versione	Descrizione della modifica
ZM01566	7	Modifiche in base ai requisiti IVDR
ZM01898	8	Allineamento dei titoli dei capitoli nei manuali
ZM01924		Chiarimento del capitolo: Procedura del saggio

2 Uso previsto

Il kit Microblot-Array viene utilizzato per la diagnosi delle malattie autoimmuni sistemiche determinando gli anticorpi IgG contro gli antigeni nucleari nel siero o nel plasma umano nella popolazione generale. Il kit automatico qualitativo, semiquantitativo e quantitativo è destinato all'uso professionale in laboratorio.

3 Introduzione

La determinazione degli anticorpi anti-nucleo e la loro successiva tipizzazione sono strumenti importanti nella diagnosi differenziale delle singole malattie autoimmuni sistemiche.

Il gruppo di autoanticorpi anti-nucleo è diretto contro antigeni non organo specifici localizzati nel nucleo cellulare o nel citoplasma. La loro evidenza potrebbe indicare la presenza di un processo immunopatologico sistemico. Si tratta in particolare delle seguenti malattie: lupus eritematoso sistemico (LES), sindrome di Sjögren (SjS), sclerodermia, malattia mista del tessuto connettivo (MCTD), sclerosi sistemica, polimiosite e dermatomiosite.

Un importante gruppo distinto di anticorpi anti-nucleo è costituito da anticorpi contro gli antigeni nucleari estraibili ENA (SS-A/Ro, SS-B/La, Sm, RNP, Scl-70 e Jo-1). Si tratta principalmente di ribonucleoproteine ed enzimi nucleari.

Gli anticorpi contro SS-A/Ro e SS-B/La sono presenti frequentemente nei pazienti con SjS e LES. Gli anticorpi contro l'antigene Sm sono un marcatore altamente specifico e uno dei criteri per la diagnosi di LES. Nei pazienti affetti da LES sono spesso presenti anche anticorpi contro l'antigene RNP (parte del complesso Sm/RNP), il cui rilevamento è un criterio altamente specifico per la diagnosi di MCTD (soprattutto in assenza di anticorpi anti-Sm).

Un altro gruppo di malattie autoimmuni non organo specifiche sono le miositi. Per la loro diagnosi viene utilizzato il rilevamento degli anticorpi contro l'antigene Jo-1, ma anche la determinazione di altri anticorpi antisintetasi, che sono importanti marcatori per la diagnosi della sindrome da anticorpi antisintetasi.

Gli anticorpi contro l'antigene Scl-70 e i centromeri sono importanti per la diagnosi della sclerosi sistemica (specialmente delle sue forme progressive).

Gli anticorpi anti-nucleo includono anche gli anticorpi contro gli acidi nucleici (ssDNA, dsDNA), i complessi proteici nucleari (DNP, RNP) e gli istoni.

Il test degli anticorpi anti-nucleo può anche rientrare nella diagnosi di altre malattie autoimmuni, come la cirrosi biliare primitiva.

Anche la determinazione degli anticorpi contro l'antigene DFS70, che sono comuni negli individui sani ma sono rari nei pazienti con malattie reumatiche autoimmuni sistemiche, contribuisce a perfezionare la diagnosi delle malattie sistemiche autoimmuni.

Microblot-Array ANA è stato progettato sia per la conferma dei risultati ottenuti con l'EIA o altri test di screening, sia per l'identificazione di un tipo specifico di anticorpi e quindi per la differenziazione di singole malattie autoimmuni sistemiche.

4 Principio del test

Il kit si basa sul principio dell'immunoblot, convertito in formato di piastra per microtitolazione. Gli antigeni ricombinanti e nativi altamente purificati vengono applicati sotto forma di micropunti (spot) su una membrana di nitrocellulosa fissata su una base di plastica che forma il fondo dei pozzetti. Durante il test, gli anticorpi specifici presenti nel campione si legano ai relativi antigeni presenti nel pozzetto. Dopo il lavaggio, durante l'incubazione con il coniugato, si verifica una reazione con l'anticorpo marcato, coniugato con fosfatasi alcalina. La visualizzazione viene eseguita mediante incubazione con una soluzione di substrato. La reazione viene fermata con acqua distillata. L'intensità della colorazione dei singoli punti antigenici viene misurata con un apposito lettore. La valutazione è possibile solo utilizzando il software in dotazione.

Per verificare la validità del test, i pozzetti contengono punti di controllo per verificare la presenza del relativo coniugato e punti di controllo per verificare la funzionalità e la sensibilità del kit. Per consentire la valutazione quantitativa, i pozzetti contengono punti di calibrazione.

5 Materiale fornito

MICROPLATE	Piastra MA	1 pz
	con antigeni ricombinanti e altamente purificati, 12 x 8 pozzetti in un sacchetto con essiccante	
CONTROL +	Controllo positivo	1 × 1,5 ml
	Soluzione contenente anticorpi specifici, alla diluizione di lavoro	
CONJUGATE 2	Coniugato	1 × 16 ml
	Soluzione contenente immunoglobulina animale, marcata AP, alla diluizione di lavoro	
SUBSTRATE 6	Soluzione di substrato	1 × 16 ml
	Soluzione tampone con BCIP e NBT, alla diluizione di lavoro	
UNIVERSAL	Soluzione universale	1 × 300 ml
	Soluzione tampone per la diluizione dei campioni e il lavaggio delle strisce, alla diluizione di lavoro	
	Scheda di calibrazione	1 pz
	Scheda di identificazione del lotto del kit	

6 Materiale necessario ma non fornito

- Pipette monocanale e multicanale
- Puntali monouso
- Dispositivo di aspirazione (ad es. NUNC)
- Cronometro
- Provette per diluizione dei sieri
- Acqua distillata
- Gorgogliatore di lavaggio
- Essiccatore Microblot-Array

Apparecchiature e software per eseguire il test

Attrezzature	Numero di catalogo	Produttore
Array Reader C-series	ARCXIX096	TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.
PC	-	-

7 Conservazione e stabilità

Conservare a una temperatura compresa tra +2 °C e +8 °C. Se le condizioni di conservazione sono rispettate, la data di scadenza è da considerarsi quella indicata sulla confezione. Una volta aperto, si consiglia di utilizzare il kit entro 3 mesi. Il kit non deve congelare!

Campioni e loro conservazione

Per i test possono essere utilizzati i campioni indicati nell'uso previsto. Il siero umano e il plasma citrato possono essere utilizzati come campione per i test. I campioni contaminati da batteri, emolitici o chilosi e gli anticoagulanti contenuti nel plasma (tranne il citrato) possono influenzare il risultato del test.

Per la raccolta del siero si consiglia di utilizzare una provetta per il sangue coagulato. Per la raccolta del plasma si consiglia di utilizzare una sacca per la raccolta del plasma citrato. L'utilizzo di altri tipi di plasma (con EDTA, eparina) è possibile, ma non raccomandato, poiché gli anticoagulanti possono influenzare il risultato del test.

Quando si utilizzano campioni commerciali o altri campioni appositamente modificati, seguire le istruzioni del fabbricante.

I campioni clinici raccolti nell'ambito delle procedure mediche di routine in provette standardizzate sono pronti per l'uso immediato, non è necessaria la centrifugazione o un'ulteriore separazione.

I campioni testati possono essere conservati a una temperatura compresa tra +2 °C e +8 °C per un massimo di 1 settimana.

8 Preparazione dei campioni

Se necessario per la validazione del dosaggio utilizzare il controllo positivo (incluso nel kit e in diluizione di lavoro).

Diluizione di campioni di siero e plasma

Diluire i campioni accuratamente miscelati con la soluzione universale in rapporto 1:51.

10 µl di campione + 500 µl di soluzione universale.

Mescolare bene.

9 Procedura del saggio

Prima dell'uso temperare tutti i componenti per circa 60 minuti a temperatura di laboratorio. Se non si utilizza l'intera piastra per microtitolazione, rimettere le strisce non utilizzate nel sacchetto con essiccante. Chiudere accuratamente il sacchetto e conservare a una temperatura compresa tra +2 °C e +8 °C. Conservare in un luogo asciutto.

Manipolazione della piastra MA di 2^a generazione

La piastra MA è composta da 12 strisce separabili contenenti 8 pozzetti staccabili.

Manipolare la piastra con cautela.

A differenza della piastra MA di 1^a generazione, le strisce vengono posizionate nel telaio dall'alto. Durante la manipolazione della piastra, le strisce potrebbero staccarsi parzialmente dal telaio. Pertanto, evitare di maneggiare la piastra in modo tale da provocare l'allentamento involontario delle strisce. Durante l'elaborazione delle strisce con l'utilizzo dell'analizzatore EIA, verificare che l'altezza di tutti i pozzetti nella piastra sia uguale.

In caso di distacco delle strisce dal telaio è necessario premerle per riportarle nella posizione originale.

Le strisce possono essere rimosse o inserite nel telaio e grazie ai pozzetti staccabili è possibile elaborare i pozzetti anche singolarmente.

Per facilitare l'identificazione, i pozzetti sono colorati in base alle classi di anticorpi (IgA - verde, IgM - rosso, IgG - blu).

La parte inferiore dei pozzetti è contrassegnata da un codice DM per identificare automaticamente il test durante la valutazione con software, quindi prestare attenzione a non danneggiare il codice durante la manipolazione, che potrebbe rendere impossibile la sua corretta lettura nel lettore.

Durante la **valutazione**, inserire con cura la piastra nel telaio sporgente del lettore e assicurarsi che sia inserita in modo corretto, ossia con il lato contrassegnato dalle lettere rivolto verso il lettore e con la piastra allineata all'interno del telaio. In caso di posizionamento scorretto della piastra (piastra in posizione trasversale all'interno del telaio), il lettore si blocca dopo l'inserimento della piastra e sarà necessario l'intervento di un tecnico.

9.1 Esecuzione del test

1. Applicare con la pipetta 150 µl di soluzione universale in ogni pozzetto e lasciare in ammollo a temperatura di laboratorio per 10 minuti.
2. Aspirare la soluzione universale dai pozzetti.
3. Applicare con la pipetta 100 µl di campioni diluiti nei pozzetti e lasciare incubare per 30 minuti a temperatura di laboratorio. Se il kit contiene il controllo positivo, esso è già alla diluizione finale. **In caso di utilizzo non diluire ulteriormente il controllo.**

4. Aspirare i campioni diluiti e sciacquare immediatamente il pozzetto con la soluzione universale (se si utilizza il gorgogliatore di lavaggio, riempire i pozzetti fino all'orlo e aspirare subito dopo aver riempito l'ultimo pozzetto).
5. Lavare sempre i pozzetti 3 volte con 150 μ l di soluzione universale per 5 minuti.
6. Aspirare la soluzione universale e applicare con la pipetta 100 μ l di coniugato in ogni pozzetto di incubazione e lasciare incubare per 30 minuti a temperatura di laboratorio.
7. Aspirare la soluzione di coniugato e sciacquare immediatamente il pozzetto con la soluzione universale (se si utilizza il gorgogliatore di lavaggio, riempire i pozzetti fino all'orlo e aspirare subito dopo aver riempito l'ultimo pozzetto).
8. Lavare sempre i pozzetti 3 volte con 150 μ l di soluzione universale per 5 minuti.
9. Aspirare la soluzione universale e applicare con la pipetta 100 μ l di soluzione di substrato in ogni pozzetto di incubazione e lasciare incubare per 15 minuti a temperatura di laboratorio.
10. Aspirare la soluzione di substrato e sciacquare immediatamente il pozzetto con acqua distillata (se si utilizza il gorgogliatore di lavaggio, riempire i pozzetti fino all'orlo e aspirare subito dopo aver riempito l'ultimo pozzetto).
11. Lavare sempre i pozzetti 2 volte con 200 μ l di acqua distillata universale per 5 minuti.
12. Lasciare asciugare la piastra per microtitolazione all'aria per 90 minuti. Un'alternativa consigliata consiste nell'utilizzare un dispositivo di asciugatura fornito dal produttore del kit. In questo caso, lasciare asciugare la piastra per microtitolazione per circa 30-45 minuti secondo le istruzioni per l'uso del dispositivo di asciugatura utilizzato.
13. Eseguire la valutazione della piastra per microtitolazione utilizzando il lettore Microblot-Array e il software di valutazione. Se il PC con il software di valutazione non è connesso a Internet, utilizzare la scheda di calibrazione allegata. In caso di una conservazione più lunga, proteggere i pozzetti dalla luce diretta coprendo la piastra per microtitolazione con il coperchio.

9.2 Esecuzione del test utilizzando l'analizzatore EIA

Per elaborare il kit sull'analizzatore EIA, seguire la procedura seguente:

1. Posizionare i reagenti temperati nell'analizzatore.
2. Posizionare la piastra MA nel supporto per piastre per microtitolazione e seguire le istruzioni per l'uso del dispositivo.
3. Al termine del test, rimuovere i reagenti e la piastra usata dal dispositivo, chiudere i flaconi e conservare il resto del kit rispettando le condizioni di conservazione prescritte (vedere il capitolo Conservazione e scadenza).
4. Eseguire la valutazione della piastra per microtitolazione utilizzando il lettore Microblot-Array e il software di valutazione. Se il PC con il software di valutazione non è connesso a Internet, utilizzare la scheda di calibrazione allegata. In caso di una conservazione più lunga, proteggere i pozzetti dalla luce diretta coprendo la piastra per microtitolazione con il coperchio.

10 Validità del test

Il test è valido se:

1. Sono presenti i punti di controllo.
2. Sono presenti i punti di controllo del coniugato della relativa classe.
3. Il controllo positivo soddisfa i requisiti indicati nella tabella (Tabella 1).

Tabella 1 Valutazione del controllo positivo

Punti antigenici	Intensità
Almeno 1 antigene del gruppo della miosite (Jo-1, PL7, PL12, EJ, OJ, KS, YARS, ZoA, ZoB, SAE1,2, SRP54, Mi-2, TIF1- γ , MDA5, NXP2)	positivo
Almeno 1 antigene del gruppo sclerodermico (PMScI75, PMScI100, CENP A, B, ScI70, POLR3A, NOR90, PDGFR- β , Fibrillarina, Th/To)	positivo
Almeno 1 antigene del gruppo SLE (Ro52, Ro60, La, SmB, SmD, RNP A, RNP C, RNP 68/70, P0, Ku, Nucleolina, dsDNA, Istone, Nucleosoma, PCNA)	positivo
Almeno altri 2 antigeni ANA (Jo-1, PL7, PL12, EJ, OJ, KS, YARS, ZoA, ZoB, SAE1,2, SRP54, Mi-2, TIF1- γ , MDA5, NXP2, PMScI75, PMScI100, CENP A, B, ScI70, POLR3A, NOR90, PDGFR- β , Fibrillarina, Th/To, Ro52, Ro60, La, SmB, SmD, RNP A, RNP C, RNP 68/70, P0, Ku, Nucleolina, dsDNA, Istone, Nucleosoma, PCNA, M2, DFS70)	positivo

4. I calibratori rispettano le seguenti regole:

- il valore del controllo di reazione (TC) è maggiore o uguale al valore del calibratore 1 (C1)
- il valore del TC è almeno 1,5 volte il valore del calibratore 2 (C2)
- il valore del calibratore 3 (C3) è inferiore al valore del calibratore 2 (C2) e contemporaneamente il valore del calibratore 3 (C3) è maggiore di 3 volte il valore del calibratore 4 (C4)
- Il calibratore 4 (C4) mostra solo valori negativi.

Il controllo positivo incluso nel kit potrebbe non contenere tutti i punti antigenici specifici.

11 Interpretazione dei risultati

11.1 Valutazione del test

La valutazione con software viene eseguita utilizzando il lettore Microblot-Array e un software di valutazione.

La valutazione complessiva del test si basa sulla combinazione della presenza di punti antigenici specifici positivi. I singoli antigeni vengono sempre applicati in tripletta, il software garantisce automaticamente la massima ottimizzazione della valutazione.

Tutte queste valutazioni vengono eseguite utilizzando un software di valutazione.

Se il PC con il software di valutazione non è connesso a Internet, è necessario utilizzare la scheda di calibrazione per il relativo lotto del kit.

11.1.1.1 Valutazione quantitativa del test in unità (U/ml)

Questa valutazione è la più precisa ed elimina potenziali errori dovuti alle eventuali lievi deviazioni durante l'elaborazione del test.

Pertanto, possono verificarsi casi in cui i risultati della valutazione quantitativa e semiquantitativa non siano completamente identici.

Il calcolo si basa sulla curva di calibrazione, realizzata in modo tale che le intensità dei calibratori siano tracciate sull'asse X e le loro concentrazioni in U/ml sull'asse Y. I livelli di anticorpi nei campioni (U/ml) sono determinati in base ai valori della curva di calibrazione creata collegando i singoli punti.

Il rapporto finale mostra il valore reale misurato del calibratore in AU nonché il valore di concentrazione del calibratore (U/ml).

L'interpretazione dei risultati della valutazione quantitativa del test è riportata nella tabella (Tabella 2.)

Tabella 2 Interpretazione quantitativa dei risultati del test in unità (U/ml)

Livello di anticorpi (U/ml)	Interpretazione
inferiore a 185	negativo
da 185 a 210	di soglia
superiore a 210	positivo

11.1.1.2 Calcolo dell'indice di positività calibrato (IP cal.)

L'IP calibrato riflette le proprietà individuali dei campioni e le condizioni di lavoro nei singoli pozzetti MTD durante l'analisi. Il calcolo dell'IP calibrato avviene secondo la seguente formula:

$$\text{IP cal.} = \frac{\text{Livello di anticorpi (U/ml)}}{\text{Valore medio di CUT-OFF (U/ml)}}$$

L'interpretazione dei risultati del test è riportata nella tabella (Tabella 3).

Tabella 3 Interpretazione dei risultati del test mediante IP cal

Indice di positività calibrato (IP)	Interpretazione
inferiore a 1,85	negativo
da 1,85 a 2,10	di soglia
superiore a 2,10	positivo

11.1.2 Valutazione semiquantitativa del test

11.1.2.1 Calcolo dell'indice di positività (IP)

Il principio di calcolo dell'IP consiste nella divisione dell'intensità del campione testato per l'intensità media di CUT OFF.

$$IP = \frac{\text{Intensità del campione testato}}{\text{Intensità media di CUT-OFF}}$$

L'interpretazione dei risultati del test è riportata nella tabella (Tabella 4).

Tabella 4 Interpretazione dei risultati del test mediante IP

Indice di positività (IP)	Interpretazione
inferiore a 0,6	negativo
da 0,6 a 0,7	di soglia
superiore a 0,7	positivo

11.1.2.2 Valutazione mediante intensità dei punti (AU)

L'interpretazione dei risultati del test è riportata nella tabella (Tabella 5).

Tabella 5 Interpretazione dei risultati del test mediante intensità dei punti (AU)

Intensità del punto (AU)	Valutazione
inferiore a 6	negativo
da 6 a 7	di soglia
superiore a 7	positivo

11.2 Elenco degli antigeni specifici

Gli antigeni altamente specifici sono riportati nella tabella (Tabella 6).

Tabella 6 Antigeni specifici

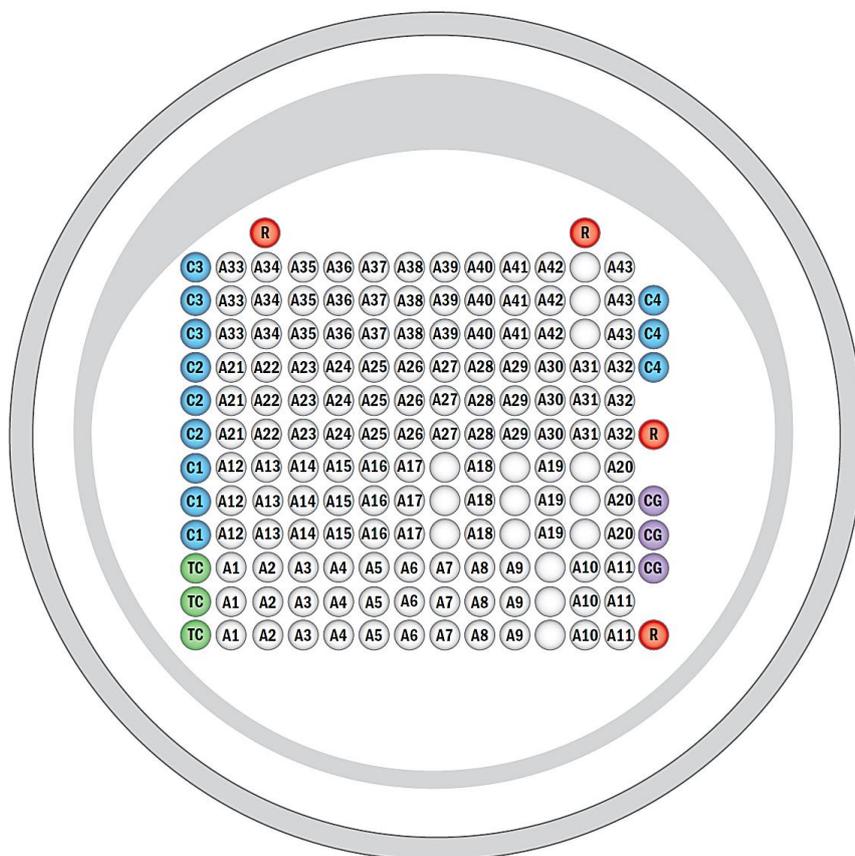
Antigene		Origine dell'antigene	Probabile associazione con la malattia
Jo-1	Istidil tRNA sintetasi	ricombinante	ASS, PM, DM
PL-7	Treonil tRNA sintetasi	ricombinante	ASS, PM, DM, Fenomeno di Raynaud
PL-12	Alanil tRNA sintetasi	ricombinante	ASS, PM, DM, Fenomeno di Raynaud
EJ	Glicil tRNA sintetasi	ricombinante	ASS
OJ	Isoleucil tRNA sintetasi	ricombinante	ASS, ILD
KS	Asparaginil tRNA sintetasi	ricombinante	ILD, PM, DM, ASS
YARS	Tyrosyl tRNA sintetasi (Ha)	ricombinante	ASS
ZoA	Fenilalanil tRNA sintetasi	ricombinante	ASS
ZoB		ricombinante	ASS
SAE-1	Piccolo modificatore simile all'ubiquitina che attiva l'enzima	ricombinante	ASS, CDM
SAE-2		ricombinante	ASS, CDM
SRP54	Particella di riconoscimento del segnale	ricombinante	IMNM, PM, DM, ASS
Mi-2	Proteina dell'elicasi: trascrizione nucleare	ricombinante	DM Giovanile, DM
TIF1γ	Fattore intermedio di trascrizione 1	ricombinante	DM, CDM, DM giovanile
MDA5	Proteina 5 associata alla differenziazione del melanoma (CADM-140)	ricombinante	DM amiotopico con progressione ILD
NXP2	Proteina della matrice nucleare 2 (p140, MJ)	ricombinante	DM Giovanile
PMScl 100	Complesso esosomico umano	ricombinante	SSc diffuso, PM/SSc,
PMScl 75		ricombinante	SSc diffuso, PM/SSc,
Sci70	DNA topoisomerasi I	ricombinante	SSc diffusa, SSc con rischio di sviluppo di fibrosi polmonare
CENP A	Centromero A	ricombinante	SSc, Sindrome CREST
CENP B	Centromero B	ricombinante	SSc, Sindrome CREST
POLR3A	RNA polimerasi III	ricombinante	SSc diffuso
NOR90	Fattore 1 (Ubf1) di trascrizione nucleolare	ricombinante	SSc, fenomeno di Raynaud, SLE, SjS

Th/To	Ribonucleasi P subunità proteica 25 (Rpp25)	ricombinante	SSc con rischio di sviluppo di fibrosi polmonare
PDGFR-β	Recettore beta del fattore di crescita derivato dalle piastrine	ricombinante	SSc a rischio di sviluppo di fibrosi polmonare, distrofia muscolare e fibrosi muscolare
Fibrillarina	U3 RNP – fibrillarina	ricombinante	SSc con rischio di sviluppo di ipertensione polmonare
Ro52	TRIM21	ricombinante	DM con progressione ILD, fenomeno di Raynaud, SLE, LE neonatale, SSc
Ro60	Antigene A (SS-A) correlato alla sindrome di Sjögren	ricombinante	SjS, LE neonatale, SLE
La	Antigene B (SS-B) correlato alla sindrome di Sjögren	ricombinante	SjS, LE neonatale, SLE
RNP A	U1 piccola ribonucleoproteina nucleare A	ricombinante	SLE, MCTD, fenomeno di Raynaud
RNP 68/70	U1 piccola ribonucleoproteina nucleare 68/70 kDa	ricombinante	SLE, MCTD, fenomeno di Raynaud
RNP C	U1 piccola ribonucleoproteina nucleare C	ricombinante	SLE, MCTD, fenomeno di Raynaud
SmB	Antigene di Smith B	ricombinante	SLE
SmD	Antigene di Smith D	ricombinante	SLE
PCNA	Antigene nucleare a cellule proliferanti	ricombinante	SLE
P0	Proteina ribosomale P0	ricombinante	SLE
Ku	Ku (p70/p80)	ricombinante	SLE, MCTD, PM/SSc
Nucleolina	Nucleolina	ricombinante	SLE
Istoni	Istone	nativo purificato	LE post cura medica, SLE
Nucleosoma	Nucleosome	nativo purificato	SLE a rischio di sviluppo di nefrite da lupus
dsDNA	DNA a doppio filamento	umano purificato nativo	SLE
M2	M2 mitocondriale (AMA-M2)	ricombinante	Cirrosi biliare primaria, SSc con progressione PBC
DFS70	Antigene 70 denso fine maculato	ricombinante	Dermatite atopica, SjS, isolata – biomarcatore per escludere SARD

ASS	Sindrome antisintetasi (Antisynthetase syndrome)
PM	Polimiosite (Polimiositis)
DM	Dermatomiosite (Dermatomyositis)
ILD	Malattia polmonare interstiziale (Interstitial lung disease)
IMNM	Miopia necrotizzante immuno-mediata (Immune-mediated necrotizing myopathy)
NM	Miopia necrotizzante (Necrotizing myopathy)
CDM	Miosite associata al cancro (Cancer-associated myositis)
IBM	Miosite da corpi inclusi (Inclusion body myositis)
SLE	Lupus eritematoso sistemico (Systemic lupus erythematosus)
MCTD	Malattia mista del tessuto connettivo (Mixed connective tissue disease)
SSc	Sclerosi sistemica (Systemic sclerosis)
SjS	Sindrome di Sjögren (Sjögren's syndrome)
PBC	Cirrosi biliare primaria (Primary biliary cirrhosis)
SARD	Malattia reumatoide autoimmune sistemica (Systemic autoimmune rheumatoid disease)
IIM	Miopia infiammatoria idiopatica (Idiopathic inflammatory myopathy)

La distribuzione degli antigeni e degli spot di controllo nei pozzetti della piastra di microtitolazione è descritta in figura (Figura 1).

Figura 1 Distribuzione degli antigeni e degli spot di controllo nel pozzetto



- A1 - Jo-1
- A2 - PL-7
- A3 - PL-12
- A4 - EJ
- A5 - OJ
- A6 - KS
- A7 - YARS
- A8 - ZoA
- A9 - ZoB
- A10 - SAE-1
- A11 - SAE-2
- A12 - SRP54
- A13 - Mi-2
- A14 - TIF1 γ
- A15 - MDA5

- A16 - NXP2
- A17 - PMScl 100
- A18 - PMScl 75
- A19 - M2
- A20 - DFS70
- A21 - Scl70
- A22 - CENP A
- A23 - CENP B
- A24 - POLR3A
- A25 - NOR90
- A26 - Th/To
- A27 - PDGFR- β
- A28 - Fibrillarin
- A29 - Ro52
- A30 - Ro60 (SS-A)

- A31 - La (SS-B)
- A32 - PCNA
- A33 - P0
- A34 - SmB
- A35 - SmD
- A36 - Nucleolin
- A37 - Nucleosome
- A38 - Histone
- A39 - RNP A
- A40 - RNP 68/70
- A41 - RNP C
- A42 - Ku
- A43 - dsDNA

R - Reference
TC - Test control
CG - Conjugate control IgG
C1 - Calibration 1
C2 - Calibration 2
C3 - Calibration 3
C4 - Calibration 4

11.3 Valutazione complessiva del test Microblot-Array ANA

Il test consente una valutazione complessiva del risultato ANA, ma anche la valutazione di singoli tipi di malattie autoimmuni sistemiche: miosite, sclerodermia, LES e altre malattie del tessuto connettivo.

I singoli antigeni sono raggruppati in base alla loro associazione con un determinato tipo di malattia ai fini della valutazione.

Gruppo 1 (ANA):

Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, YARS, ZoA, ZoB, SAE-1, SAE-2, SRP54, Mi-2, TIF1 γ , MDA5, NXP2, PMScl 75, PMScl 100, CENP A, CENP B, Scl70, POLR3A, NOR90, PDGFR- β , Fibrillarina, Th/To, Ro52, Ro60, La, SmB, SmD, RNP A, RNP C, RNP 68/70, P0, Ku, Nucleolina, dsDNA, Istone, Nucleosoma, PCNA.

Antigeni complementari: M2, DFS70.

Gruppo 2 (miosite):

Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, YARS, ZoA, ZoB, SAE-1, SAE-2, SRP54, Mi-2, TIF1 γ , MDA5, NXP2.

Antigeni complementari: Ro52, PMScl 75, PMScl 100, Ku.

Gruppo 3 (Sclerodermia):

CENP A, CENP B, Scl70, POLR3A, NOR90, PDGFR- β , Fibrillarina, Th/To, PMScl 75, PMScl 100, RNP A, RNP C, RNP 68/70.

Antigeni complementari: Ro52, Ku, M2.

Gruppo 4 (LES e altre malattie del tessuto connettivo):

dsDNA, istone, nucleosoma, PCNA, SmB, SmD, RNP A, RNP C, RNP 68/70, P0, Ku, nucleolina, Ro52, Ro60, La, NOR90.

La valutazione complessiva del test ANA si basa sulle regole elencate nella tabella (Tabella 7).

Tabella 7 Valutazione complessiva del test ANA

Almeno un antigene del gruppo 1 (ANA)	Valutazione del test ANA	Valutazione di antigeni complementari M2 e DFS70			
		DFS70	Commento	M2	Commento
positivo	positivo	positivo		positivo	possibile rischio di progressione della cirrosi biliare primaria
borderline	borderline				
negativo	negativo	positivo	bassa probabilità SARD		

La valutazione del test per la Miosite include gli antigeni del gruppo 2, compresi gli antigeni aggiuntivi, e si basa sulle regole elencate nella tabella seguente (Tabella 8).

Tabella 8 Valutazione complessiva del test Miosite

Almeno un antigene del gruppo 2 (Miosite)	Valutazione del test Miosite	Valutazione di antigeni complementari			
		PM/ScI a/nebo Ku	Commento	Ro52	Commento
positivo	positivo	positivo	possibili sindromi sovrapposte, in particolare PM/SSc	positivo	possibili sindromi sovrapposte; aumento del rischio di ILD nei pazienti IIM
borderline	borderline				
negativo	negativo				

La valutazione del test per la Sclerodermia include gli antigeni del gruppo 3, compresi gli antigeni aggiuntivi, e si basa sulle regole elencate nella tabella seguente (Tabella 9).

Tabella 9 Valutazione complessiva del test Sclerodermia

Almeno un antigene del gruppo3 (Sklerodermia)	Valutazione del test Sklerodermia	Valutazione di antigeni complementari					
		Ro52	Commento	Ku	Commento	M2	Commento
positivo	positivo	positivo	possibili sindromi sovrapposte	positivo	possibili sindromi sovrapposte, in particolare PM/SSc	positivo	possibile rischio di progressione della cirrosi biliare primaria
borderline	borderline						
negativo	negativo						

La valutazione del test di LES e altre malattie del tessuto connettivo include antigeni del gruppo 4, compresi gli antigeni aggiuntivi, e si basa sulle regole elencate nella tabella seguente (Tabella 10).

Tabella 10 Valutazione complessiva del test LES e altre malattie del tessuto connettivo

Almeno un antigene del gruppo 4 (LES e altre malattie del tessuto connettivo)	Valutazione del test di LES e altre malattie del tessuto connettivo
positivo	positivo
borderline	borderline
negativo	negativo

Limitazioni del test

L'esame dei campioni di soglia deve essere ripetuto da un nuovo prelievo dopo 2-6 settimane, a seconda delle specifiche della relativa malattia.

I risultati del test sierologico possono essere interpretati solo nel contesto dei risultati di altri esami di laboratorio e del quadro clinico del paziente.

Un risultato negativo del test non esclude la presenza di una malattia autoimmune; d'altra parte, anche i campioni provenienti da individui sani possono contenere autoanticorpi in alcuni casi.

12 Prestazioni analitiche

12.1 Specificità e sensibilità

La specificità è stata determinata su un pannello di campioni negativi. La sensibilità è stata determinata su un pannello di campioni positivi. Il numero di campioni testati e i risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 11). La frequenza di rilevamento degli anticorpi antinucleari è stata monitorata in gruppi clinicamente definiti (Tabella 12). Il kit è stato testato anche su una serie di campioni di riferimento CDC (ANA reference standards for the detection of antinuclear antibodies), forniti dal Center for Disease Control, USA (Tabella 13).

12.2 Precisione: Ripetibilità

La precisione in condizioni di ripetibilità è definita come la prossimità di concordanza tra i valori misurati ottenuti replicando la misurazione di campioni sullo stesso oggetto nelle stesse condizioni in una serie di esami. Si esprime mediante il coefficiente di variazione. I risultati ottenuti di ripetibilità (Intra-lot – within-run) sono descritti nella tabella (Tabella 14).

12.3 Precisione: Riproducibilità

La precisione in condizioni di riproducibilità include misurazioni tra singoli giorni (between-day), cicli (between-run) e la precisione nell'ambito di laboratorio (between-device-operators), espressa come grado di concordanza tra i campioni replicati misurati in giorni di prova e cicli diversi. I risultati ottenuti di riproducibilità sono descritti nella tabella (Tabella 14).

12.4 Accuratezza

L'accuratezza è definita come la prossimità di concordanza tra il valore misurato e il valore di riferimento. È espressa come il grado raggiungibile di incertezza combinata. I risultati sono descritti nella tabella (Tabella 14).

12.5 Campo di misura del kit

Il campo di misura del kit è compreso tra valori e i limiti inferiore e superiore dipendono dal valore del calibratore inferiore e superiore (Tabella 14).

12.6 Linearità

La linearità è la capacità del metodo di ottenere risultati proporzionali alla concentrazione dell'analita nel campione. Viene espresso come l'intervallo tra i valori limite in cui il metodo fornisce risultati lineari. I risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 14).

12.7 Correlazione con il kit di riferimento

È stato effettuato un confronto con il kit di riferimento. I risultati di entrambi i kit sono comparabili, tenendo conto delle differenze di design dei due kit, e soddisfano pienamente i requisiti per i kit diagnostici. La concordanza nella classificazione dei campioni è almeno del 90%. I risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 14).

12.8 Correlazione di due metodi diversi

È stato effettuato un confronto del kit con il metodo di riferimento. I risultati di entrambi i metodi sono comparabili, tenendo conto delle differenze di entrambi i metodi, e soddisfano pienamente i requisiti per i kit diagnostici. La concordanza nella classificazione dei campioni è almeno del 90%. I risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 14).

Tabella 11 Sensibilità e specificità del kit

ANA (n = 206)		Microblot-Array ANA		
		positivo	negativo	
dichiarato	positivo	86	1	Sensibilità 98,85% Specificità 99,16%
	negativo	1	118	

Miosite (n = 106)		Microblot-Array ANA		
		positivo	negativo	
dichiarato	positivo	31	3	Sensibilità 91,18% Specificità 94,44%
	negativo	4	68	

Sclerodermia (n = 129)		Microblot-Array ANA		
		positivo	negativo	
dichiarato	positivo	71	6	Sensibilità 92,21% Specificità 92,31%
	negativo	4	48	

LES (n = 200)		Microblot-Array ANA		
		positivo	negativo	
dichiarato	positivo	122	7	Sensibilità 94,57% Specificità 90,14%
	negativo	7	64	

Tabella 12 Frequenza di rilevamento degli anticorpi antinucleari in pannelli clinicamente definiti

	Miosite (n=45)		Sclerodermia (n=72)		LES (n=135)	
Jo-1	7	16%	0	0%	0	0%
PL-7	2	4%	0	0%	3	2%
PL12	4	9%	0	0%	3	2%
EJ	0	0%	0	0%	2	1%
OJ	0	0%	0	0%	2	1%
KS	0	0%	2	3%	3	2%
YARS	2	4%	0	0%	3	2%
ZoA	1	2%	0	0%	1	1%
ZoB	0	0%	0	0%	0	0%
SAE-1	4	9%	0	0%	4	3%
SAE-2	6	13%	1	1%	4	3%
SRP54	3	7%	4	6%	2	1%
Mi2	13	29%	0	0%	13	10%
TIF1 γ	4	9%	1	1%	5	4%
MDA5	3	7%	0	0%	2	1%
NXP2	5	11%	0	0%	0	0%
PMScl 100	1	2%	11	15%	4	3%
PMScl 75	7	16%	5	7%	10	7%
M2	0	0%	1	1%	8	6%
DFS70	3	7%	46	64%	7	5%
Sci70	4	9%	38	53%	8	6%
CENP A	0	0%	18	25%	1	1%
CENP B	0	0%	9	13%	1	1%
POLR3A	8	18%	8	11%	3	2%
NOR90	3	7%	0	0%	5	4%
Th/To	0	0%	0	0%	0	0%
PDGFR- β	0	0%	7	10%	0	0%
Fibrillarin	2	4%	17	24%	2	1%
Ro52	13	29%	6	8%	47	35%
Ro60	5	11%	6	8%	47	35%
La	4	9%	0	0%	36	27%
PCNA	1	2%	0	0%	1	1%
P0	4	9%	2	3%	20	15%
SmB	6	13%	1	1%	44	33%
SmD	2	4%	5	7%	31	23%
Nucleolin	6	13%	1	1%	15	11%
Nukleozom	4	9%	0	0%	33	24%
Histone	0	0%	2	3%	33	24%
RNP A	1	2%	1	1%	47	35%
RNP 68	0	0%	0	0%	20	15%
RNP C	1	2%	0	0%	28	21%
Ku	1	2%	2	3%	2	1%
dsDNA	8	18%	0	0%	83	61%

Tabella 13 Test del campione di riferimento CDC

CDC determination		Microblot-Array ANA
CDC #01	ANA Homogeneous/rim pattern	dsDNA
CDC #02	ANA Speckled /SS-B -La	Ro52, Ro60, La
CDC #03	ANA Speckled /SS-A, SS-B -La, RNP	Ro52, Ro60, La, SmB, RNP A, RNP68
CDC #04	Anti-U1 RNP	RNP A, RNP68
CDC #05	Anti-Sm	SmB, SmD, RNP A, RNPC
CDC #06	Anti Nucleolar : anti-Fibrillarin U3 RNP	Fibrillarin
CDC #07	Anti-SS-A Ro	Ro52, Ro60, sl. His
CDC #08	Anti-Centromere	M2, CENP A, CENP B
CDC #09	Anti Scl-70 (DNA topoisomerase I)	Scl70, CENP A, NOR90
CDC #10	Anti-Jo1 (histidyl-tRNA synthetase)	Jo-1, PL7, Ro52
CDC #11	Anti-PM/Scl	PMScl100
CDC #12	Anti-Ribosomal P	P0
CDC #21	Anti-Mitochondrial (AMA)	M2

Tabella 14 Prestazioni analitiche del kit

Parametro	Valore
Precisione: Ripetibilità (Intra-lot – within-run)	9,10%
	Between-day
	9,21%
Precisione: Riproducibilità	Between-run
	9,44%
	Between-device-operators
	8,50%
Accuratezza	13,36%
Campo di misura	30–1000 U/ml
	ANA
	50–990 U/ml
	Miosite
	0–680 U/ml
Intervallo di linearità	Sclerodermia
	150–990 U/ml
	LES e altre malattie del tessuto connettivo
	110–940 U/ml
Correlazione con il kit di riferimento - Miosite	98,57%
Correlazione con il kit di riferimento - Sclerodermia	99,07%
Correlazione con il metodo di riferimento	95,52%

12.9 Interferenza

I campioni selezionati sono stati arricchiti con sostanze endogene potenzialmente interferenti. I risultati del test sono riassunti nella tabella (Tabella 15).

Tabella 15 Risultati del test di interferenza

Sostanza interferente	Il risultato non influenzato fino alla concentrazione:
Bilirubina	0,4 mg/ml
Triacilgliceroli	20 mg/ml
Emoglobina	5 mg/ml

12.10 Reattività crociata

Sul kit sono stati testati i campioni positivi per agenti patogeni o fattori selezionati con potenziale reazione crociata. I risultati del test sono riassunti nella tabella (Tabella 16).

Tabella 16 Reattività crociata del kit su un pannello di campioni con potenziale reazione crociata

Categoria	n	Risultato positivo	Risultato negativo	Reattività crociata
ANCA	25	1	24	4,00%
EBV	33	1	32	3,03%
AMA, ASMA	25	1	24	4,00%
CCP	15	0	15	0,00%

La potenziale reattività crociata con altri agenti patogeni e agenti correlati è trascurabile (meno del 5%).

13 Prestazione clinica

Specificità diagnostica e sensibilità diagnostica

La specificità diagnostica è stata determinata su un pannello di campioni negativi. La sensibilità diagnostica è stata determinata su un pannello di campioni positivi. Il numero di campioni testati e i risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 17, Tabella 18, Tabella 19, Tabella 20).

Valore predittivo positivo e negativo

Il valore predittivo positivo è la probabilità che una persona sia effettivamente colpita dall'infezione se il risultato è positivo. Il valore predittivo negativo è la probabilità che una persona sia effettivamente sana se il risultato è negativo. I risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 17, Tabella 18, Tabella 19, Tabella 20).

Rapporto di verosimiglianza del kit

Il rapporto di verosimiglianza per un test positivo è definito come il rapporto tra la probabilità che un individuo della popolazione affetta venga diagnosticato positivo al test e la probabilità che un individuo sano venga erroneamente diagnosticato come positivo.

Il rapporto di verosimiglianza per un test negativo è definito come il rapporto tra la probabilità che un individuo della popolazione affetta venga erroneamente diagnosticato negativo al test e la probabilità che un individuo sano venga diagnosticato come negativo. I risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 17, Tabella 18, Tabella 19, Tabella 20).

Valori attesi nella popolazione

I valori attesi nella popolazione sono determinati in base ai risultati dei valori per una serie di campioni dichiarati negativi e una serie di campioni dichiarati positivi per la presenza di anticorpi specifici. I risultati ottenuti sono descritti nella tabella (Tabella 17, Tabella 18, Tabella 19, Tabella 20).

Tabella 17 Prestazione clinica del kit (ANA test)

Parametro	Valore	95% intervallo di confidenza (IC)
Sensibilità diagnostica n = 87	98,85%	93,76% - 99,97%
Specificità diagnostica n = 119	99,16%	95,41% - 99,98%
Valore predittivo positivo n = 87	98,85%	93,76% - 99,97%
Valore predittivo negativo n = 119	99,16%	95,41% - 99,98%
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test positivo	>100	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo	0,012	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo		N/A
Valori attesi nella popolazione affetta		N/A

N/A - non applicabile.

Tabella 18 Prestazione clinica del kit (Miosite test)

Parametro	Valore	95% intervallo di confidenza (IC)
Sensibilità diagnostica n = 34	91,18%	76,32% - 98,14%
Specificità diagnostica n = 72	94,44%	86,38% - 98,47%
Valore predittivo positivo n = 34	88,57%	73,26% - 96,80%
Valore predittivo negativo n = 72	95,77%	88,14% - 99,12%
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test positivo	16,412	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo	0,093	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo		N/A
Valori attesi nella popolazione affetta		N/A

N/A - non applicabile.

Tabella 19 Prestazione clinica del kit (Sclerodermia test)

Parametro		Valore	95% intervallo di confidenza (IC)
Sensibilità diagnostica	n = 77	92,21%	83,81% - 97,09%
Specificità diagnostica	n = 52	92,31%	81,46% - 97,86%
Valore predittivo positivo	n = 77	94,67%	86,90% - 98,53%
Valore predittivo negativo	n = 52	88,89%	77,37% - 95,81%
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test positivo		11,987	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo		0,084	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo			N/A
Valori attesi nella popolazione affetta			N/A

N/A - non applicabile.

Tabella 20 Prestazione clinica del kit (LES e altre patologie del tessuto connettivo)

Parametro		Valore	95% intervallo di confidenza (IC)
Sensibilità diagnostica	n = 129	94,57%	89,14% - 97,79%
Specificità diagnostica	n = 71	90,14%	80,74% - 95,94%
Valore predittivo positivo	n = 129	94,57%	89,14% - 97,79%
Valore predittivo negativo	n = 71	90,14%	80,74% - 95,94%
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test positivo		9,592	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo		0,060	-
Rapporto di verosimiglianza del kit per un test negativo			N/A
Valori attesi nella popolazione affetta			N/A

N/A - non applicabile.

14 Sicurezza sul lavoro

Il kit è destinato esclusivamente per uso diagnostico in vitro.

I sieri utilizzati nella produzione dei controlli sono stati testati per HIV 1 e HIV 2, HBsAg, HCV, TPHA con risultati negativi. Tuttavia essi dovrebbero essere trattati come potenzialmente infettivi.

Alcuni reagenti contengono il componente tossico sodio azide o gentamicina, ma in concentrazioni molto basse. Evitare il contatto con la pelle.

È necessario rispettare le normative locali in materia di sicurezza sul lavoro.

Primo soccorso

In caso di contatto con gli occhi, sciacquare abbondantemente con acqua tiepida e consultare un medico. In caso di contatto con gli indumenti e la pelle, togliersi tutti gli indumenti contaminati. Lavare la pelle abbondantemente con acqua e sapone. In caso di contaminazione con una soluzione contenente plasma o un campione clinico, disinfettare la pelle. In caso di ingestione accidentale, sciacquare la bocca con acqua potabile e consultare un medico.

Smaltimento dei residui dopo l'esecuzione dei test

Tutti gli strumenti utilizzati per eseguire il test devono essere considerati potenzialmente infettivi a causa del contatto con materiale biologico. Pertanto devono essere smaltiti insieme ai rifiuti biologici.

Smaltimento del kit dopo la scadenza

Smontare i singoli componenti del kit e smaltirli come materiale biologico. Smaltire imballaggi e residui di imballaggio come rifiuti differenziati secondo le normative locali.

15 Note tecniche

Per ottenere risultati affidabili, è necessaria l'abilità e il pieno rispetto delle istruzioni per l'uso.

Durante il lavoro utilizzare sempre strumenti perfettamente puliti. Usare preferibilmente strumenti monouso.

Piastra MA: prima dell'apertura lasciare sempre il sacchetto con la piastra a temperare a temperatura di laboratorio, per evitare la condensazione del vapore acqueo sulla superficie della piastra.

Elaborazione della piastra MA: nel caso in cui non verrà utilizzata tutta la striscia, per l'elaborazione nella maggior parte di analizzatori o con l'utilizzo di un gorgogliatore è necessario riempire le posizioni libere con pozzetti di ricambio vuoti (fino a un totale di 8 pozzetti per ogni colonna).

In ogni pozzetto, oltre agli antigeni, ai punti di controllo e ai punti di calibrazione, vengono applicati i cosiddetti punti di riferimento, che servono per l'identificazione precisa dei singoli punti da parte del software.

Durante l'applicazione della soluzione universale nei pozzetti MTD, a causa delle proprietà caratteristiche del materiale utilizzato (porosità della membrana NC), potrebbero inumidirsi anche i pozzetti adiacenti. Tuttavia, questo fenomeno non pregiudica in alcun modo il risultato finale del test.

I risultati irriproducibili possono derivare da errori metodologici, in particolare da:

- miscelazione insufficiente delle soluzioni e dei campioni prima dell'uso
- scambio dei tappi dei flaconi
- utilizzo dello stesso puntale per applicare le varie soluzioni con la pipetta
- esposizione dei reagenti a temperatura eccessiva (sole estivo) o forte contaminazione batterica
- lavaggio insufficiente dei pozzetti
- tempera insufficiente di reagenti e campioni prima dell'uso
- temperatura insufficiente in laboratorio (< 22 °C)
- contatto dei reagenti con ossidanti, metalli pesanti e loro sali

Limitazioni tecniche dei campioni

Per la produzione e lo sviluppo del kit sono stati utilizzati materiali di origine umana provenienti dalla popolazione donatrice indicati nell'uso previsto. Salvo diverse indicazioni, i kit sono destinati all'uso nella popolazione generale.

Quando si utilizzano campioni provenienti da altre popolazioni specifiche (popolazione comorbida, immunocompromessa, incinta, pediatrica), nel contesto delle conoscenze specialistiche e delle attuali conoscenze scientifiche bisogna considerare il rischio che i risultati del test applicato potrebbero essere influenzati ad esempio da interferenza o reattività crociata.

Altre note

Il kit può essere elaborato in modo graduale.

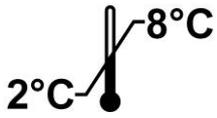
Se necessario, la società TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. fornisce una modifica certificata delle istruzioni operative per il tipo specifico di analizzatore.

Né la società TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. né i suoi distributori autorizzati sono responsabili per eventuali danni derivanti da una modifica o dal mancato rispetto delle procedure operative.

16 Riferimenti

1. Ghirardello A, Borella E, Beggio M, Franceschini F, Fredi M, Doria A. Myositis autoantibodies and clinical phenotypes. *Auto Immun Highlights*. 2014, 5(3), 69-75.
2. Conrad K, Schössler W, Hiepe F. Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases: A Diagnostic Reference. Lengerich: *Pabst Science Publishers*, 2002.
3. Conrad K, Andrade LEC, Chan EKL, Fritzler MJ, Pruijn GJM, Shoenfeld Y, Steiner G. Immunodeficiency, Infection and Autoimmune Diseases. In: *13th Dresden Symposium on Autoantibodies*. Dresden: Pabst Science Publishers, 2017, 27-30.
4. Seelig CA, Bauer O, Seelig HP. Autoantibodies Against DFS70/LEDGF Exclusion Markers for Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases (SARD). *Clin Lab*. 2016, 62(4), 499-517.
5. Fritsch S, Pizzol VI, Paiva ES, Muller CS. Autoantibodies coexistence in systemic sclerosis: how to interpret it? *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2012, 52(6), 952-955.
6. Menéndez A, Gómez J, Caminal-Montero L, Díaz-López JB, Cabezas-Rodríguez I, Mozo L. Common and specific associations of anti-SSA/Ro60 and anti-Ro52/TRIM21 antibodies in systemic lupus erythematosus. *Sci World J*. 2013, 2013, 1-8.
7. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther*. 2003, 5(2), 80-93.
8. Betteridge Z, McHugh N. Myositis-specific autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. *J Intern Med*. 2016, 280(1), 8-23.
9. Wielosz E, Dryglewska M, Majdan M. Serological profile of patients with systemic sclerosis. *Postepy Hig Med Dosw*. 2014, 68, 987-991.
10. Solomon J, Swigris JJ, Brown KK. Myositis-related interstitial lung disease and antisynthetase syndrome. *J Bras Pneumol*. 2011, 37(1), 100-109.
11. Sato S, Kuwana M. Utility of dermatomyositis-specific autoantibodies for diagnosis and clinical subsetting. *Int J Clin Rheumatol*. 2015, 10, 257-271.
12. Consolaro A, Varnier GC, Martini A, Ravelli A. Advances in biomarkers for paediatric rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2015, 11(5), 265-275.

17 Simboli



Temperatura di conservazione



Conservare in luogo asciutto



Data di scadenza



Numero di lotto



Fabbricante



Leggere le istruzioni per l'uso



Numero di catalogo



Quantità dei test



Dispositivo medico diagnostico in vitro

Note

Schema del test Microblot-Array ANA

Passo	Simbolo	Singoli passi del test
1		Dosaggio della soluzione universale 150 µl
2		Ammollo per 10 minuti a temperatura di laboratorio
3		Aspirazione
4		Diluizione dei campioni di siero/plasma 1:51 (10 µl + 500 µl)
5		Dosaggio dei controlli e dei campioni diluiti 100 µl
6		Incubazione per 30 minuti a temperatura di laboratorio
7		Lavaggio breve con la soluzione universale*
8		Aspirazione e lavaggio nella soluzione universale 3 volte con 150 µl per 5 minuti
9		Dosaggio del coniugato 100 µl
10		Incubazione per 30 minuti a temperatura di laboratorio
11		Lavaggio breve con la soluzione universale*
12		Aspirazione e lavaggio nella soluzione universale 3 volte con 150 µl per 5 minuti
13		Dosaggio della soluzione di substrato (BCIP/NBT) 100 µl
14		Incubazione per 15 minuti a temperatura di laboratorio
15		Lavaggio breve con acqua distillata*
16		Aspirazione e lavaggio nell'acqua distillata 2 volte con 200 µl per 5 minuti
17		Asciugatura e valutazione

* se si utilizza il gorgogliatore di lavaggio, riempire i pozzetti fino all'orlo e aspirare subito dopo aver riempito l'ultimo pozzetto