



A.MENARINI
diagnostics

DETECTION DES AUTOANTICORPS

IVD

ENCART DU PRODUIT

REF 37783 Substrat Rein/estomac de souris 48 Tests

REF 37784 Substrat Rein/estomac/foie de souris 48 Tests

REF 37785 Lamelle Estomac/Rein de Souris 8 Puits

REF 37786 Lamelle Estomac/Rein/Foie de Souris 8 Puits

Test par immunofluorescence indirecte pour la recherche et la détermination quantitative des anticorps antinucléaires (ANA) **REF** 37783, 37784, 37785, 37786, anticorps anti-mitochondriaux (AMA), anticorps anti-muscle lisse (ASMA), anticorps anti-cellule pariétale gastrique (AGPA) **REF** 37783, 37784, 37785, 37786, et anticorps anti-microsomaux foie/rein **REF** 37784, 37786 dans le sérum humain.

GENERALITES

Les **Anticorps antinucléaires (ANA)** détectés par immunofluorescence indirecte sont une aide dans le diagnostic des désordres du tissu conjonctif comprenant le lupus érythémateux disséminé (SLE), le Syndrome de Sjögren, la sclérodermie et les diverses maladies du tissu conjonctif¹⁻⁵. Les ANA se retrouvent chez environ 95% de patients atteints de SLE ainsi que chez les patients présentant d'autres maladies du tissu conjonctif. Les ANA peuvent également se retrouver lors d'autres désordres tels que l'hépatite active chronique et la cirrhose biliaire primaire (PBC)⁶⁻⁸.

Les **Anticorps anti-mitochondriaux (AMA)** se retrouvent dans plus de 90% de cas de cirroses biliaires primaires, chez 3 à 11% des patients ayant une hépatite active chronique et sont absents chez les patients présentant une obstruction biliaire extra-hépatique et dans d'autres affections du foie. La présence des AMA dans tous les cas de PBC et leur absence dans l'ictère extra-hépatique les rend utiles pour la différenciation diagnostique de ces maladies⁶⁻¹².

Les **Anticorps anti-muscle lisse (ASMA)** se retrouvent en titre élevé (> 160) dans la majorité de cas d'hépatite active chronique et en titre intermédiaire (40-80) dans l'hépatite virale aiguë. De temps en temps ils peuvent se retrouver dans les cas de PBC où ils sont également trouvés dans des titres intermédiaires. La signification des titres de 20-40 est douteuse puisque ces valeurs peuvent se retrouver chez les individus normaux^{13,14}.

Les **Anticorps anti-cellule pariétale gastrique (AGPA)** sont généralement associés à l'anémie pernicieuse et à la gastrite atrophique chronique où ils se retrouvent respectivement dans environ 90% et 50% des cas. Cependant, ils ne sont spécifiques à ces maladies car ils peuvent se retrouver en faible fréquence dans d'autres maladies. Bien que certains individus en bonne santé puissent avoir des AGPA, leur présence peut refléter la gastrite atrophique asymptomatique. Les résultats négatifs pour les AGPA permettent d'exclure la présence d'anémie pernicieuse¹⁵⁻¹⁷.

Les **anticorps anti-microsomaux foie/rein (LKM)** sont des anticorps microsomaux qui montrent une réaction de conformation de coloration caractéristique du cytoplasme du foie et des tubes proximaux du rein. Ils se retrouvent chez les patients souffrant d'hépatite autoimmunitaire¹⁸⁻²⁰. Les anticorps LKM sont principalement d'isotype IgG et peuvent être différenciés par différentes conformations de réaction.

PRINCIPE DE LA METHODE

Avec la méthode d'immunofluorescence indirecte utilisée dans ce kit, les sérums des patients sont incubés sur des substrats rein/estomac ou rein/estomac/foie de souris, ce qui permet la fixation des anticorps avec le substrat tissu. Un rinçage de la lame élimine tous les anticorps non fixés. Une incubation du substrat avec un conjugué anti-IgG humaines, marqué à la fluorescéine, permet la détection des anticorps de classe IgG fixés. Les réactions sont observées sous un microscope à fluorescence équipé des filtres appropriés. Une fluorescence vert pomme des structures histologiques spécifiques du tissu montre la présence d'ANA, ASMA, AMA, AGPA et LKM. Les titres du sérum (la dernière dilution donnant une réaction positive) sont alors déterminés par dilutions sériques successives¹⁸.

INFORMATION PRODUIT

Conservation et préparation des réactifs

Conservé tous les réactifs entre 2° et 8°C. Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Avant utilisation, attendre que les réactifs s'équilibrent à la température ambiante du laboratoire.


Matériel fourni

 Menarini™ Substrat Rein/estomac de souris **REF** 37783

 Menarini™ Substrat Rein/estomac/foie de souris **REF** 37784

Le kit contient les réactifs suffisants pour exécuter 48 tests.

6 x	SORB SLD 8	Lames 8 puits avec substrat de Rein/estomac de souris REF 37783
6 x	SORB SLD 8	Lames 8 puits avec substrat de Rein/estomac/foie de souris REF 37784
1 x 0,5 ml	CONTROL + ANA *	Contrôle positif ANA, avec sérum humain.
1 x 0,5 ml	CONTROL + AMA *	Contrôle positif AMA, avec sérum humain.
1 x 0,5 ml	CONTROL - *	Contrôle négatif, avec sérum humain.
1 x 5 ml	IgG-CONJ FITC EB *	Conjugué FITC anti-IgG humaines avec coloration Bleu d'Evans. Maintenir à l'abri de la lumière.
1 x 60 ml	BUF *	Diluant sérum.
2 flacons	BUF WASH	Tampon phosphate salin (PBS). Dissoudre chaque flacon pour obtenir 1 litre.
1 x 5,0 ml	MOUNTING MEDIUM *	Milieu de montage. Ne pas congeler.
1 x 12	COVER SLD	Lamelles couvre-lames.

Composants en option

1 x 5 ml	IgG-CONJ FITC *	REF 38009. Conjugué FITC anti-IgG humaines. Maintenir à l'abri de la lumière.
1 x 1.0 ml	EVANS	REF 38014. Contre-coloration Bleu d'Evans.

 * Contient < 0.1% NaN₃
Symboles utilisés sur les étiquettes:
LOT Numéro de lot

 REF Numéro de référence catalogue

A utiliser avant

Température de conservation

Lire les instructions d'utilisation

IVD Pour usage diagnostique In vitro

Fabricant

Nombre de tests

Matériel nécessaire mais non fourni

- Microscope à fluorescence
- Micropipette ou pipette Pasteur



- Pipettes sérologiques
- Bac à coloration pour le lavage des lames (bac Coplin)
- Petits tubes (ex : 13 X 75 mm) et porte-tubes
- Eau distillée ou déionisée
- Eprouvette graduée 1l
- Flacon pour solution de lavage
- Serviettes en papier
- Chambre d'incubation

MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

Utilisation comme test de diagnostic *in vitro*. Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation des réactifs a été testé en respectant les recommandations de la FDA et résulte non réactif aux antigènes de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), en anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti-HCV) et en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti-VIH1, anti-VIH2 et HTLV-I). Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage¹⁴.

ATTENTION - Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium (NaN_3). Ce composé peut former dans les canalisations en plomb ou en cuivre des azotures métalliques hautement explosifs. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, rincer l'évier à grande eau lors de l'élimination de ces réactifs. L'azide de sodium est toxique en cas d'ingestion. En cas d'ingestion, informer immédiatement le responsable du laboratoire et contacter le centre antipoison.

La qualité des résultats est dépendante du respect des instructions figurant dans la présente notice. Ne pas échanger des réactifs du kit composants par d'autres provenant d'autres fabricants. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, congeler les sérums à -20°C. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums.

MODE OPERATOIRE

A. Dépistage

1. Diluer chaque sérum de patient au 1:40 à l'aide du diluant échantillon fourni (10µl de sérum + 390µl de diluant). Ne pas diluer les contrôles positifs ou négatifs. Conserver le sérum pur pour déterminer le titre des anticorps dans le cas où le dépistage serait positif.
2. Laisser les lames prendre la température du laboratoire pendant 10-15 minutes dans le sachet scellé. Sortir les lames avec précaution sans toucher le substrat
3. Numéroter les lames et les placer dans la chambre humidifiée avec des serviettes en papier mouillées pour éviter le dessèchement.
4. Retourner le flacon doseur et appuyer doucement pour déposer 1 goutte (environ 50µl) de Contrôle Négatif sur le puit n°1. De la même façon déposer 1 goutte de Contrôle Positif ANA sur le puit n°2. Si cela est nécessaire, 1 goutte de contrôle positif AMA sur le puit n°3. Eviter de déborder des puits.
5. A l'aide d'une micropipette ou d'une pipette Pasteur, déposer 1 goutte (environ 50µl) de sérum dilué dans les puits restants. Eviter de déborder des puits.
6. Replacer le couvercle sur la chambre et incuber les lames 30 minutes à température ambiante.



7. Sortir une lame de la chambre d'incubation. En la tenant par un bord, rincer doucement avec une pipette contenant environ 10 ml de PBS ou rincer la lame dans un becher rempli de PBS. Ne pas utiliser de pissette. Transférer immédiatement la lame dans un bac à coloration et laver pendant 10 minutes. Répéter les opérations avec toutes les lames.
8. Retirer une (les) lame(s) du bac de coloration. Eliminer l'excès de PBS avec une serviette en papier. Déposer la lame dans la chambre d'incubation. Retourner les flacons doseurs de conjugué et déposer immédiatement 1 goutte (environ 50µl) dans chaque puit.
9. Répéter les étapes 7 et 8 avec chaque lame.
10. Replacer le couvercle sur la chambre d'incubation et incuber 30 minutes à température ambiante.
11. Sortir une lame de la chambre d'incubation. En la tenant par un bord, plonger la lame dans un becher rempli de PBS pour éliminer l'excès de conjugué. Transférer dans un bac à coloration rempli de PBS pendant 10 minutes. Si un supplément de conjugué sans contre-coloration est utilisé (voir composé en option dans la Section Matériel Fourni), 2-3 gouttes de contre-coloration bleue d'Evans peuvent être ajoutée au lavage final. Répéter les opérations avec toutes les lames.
REMARQUE: Un lavage incorrect peut augmenter le bruit de fond de fluorescence.
12. Retirer une lame du bac. Eliminer l'excès de PBS avec une serviette en papier. Pour éviter de mettre à sec les puits, réaliser immédiatement l'étape 13 pendant que la lame est encore humide.
13. Déposer doucement 3 **gouttes** de milieu de montage dans chaque puit et appliquer la lamelle couvre-lame. Ne pas appliquer de pression excessive et éviter les mouvements latéraux de la lamelle.
14. Répéter les étapes 12 et 13 avec chaque lame.
15. Observer la fluorescence spécifique à l'aide d'un microscope au grossissement X200 ou plus.

Les lames peuvent être lues immédiatement. Cependant, grâce à la présence d'un agent anti-fading dans le milieu de montage, la lecture peut être retardée jusqu'à 48 heures sans perte significative de l'intensité de fluorescence. Dans ce cas les lames doivent être conservées à l'obscurité entre 2 et 8°C.

B. Détermination du titre par les dilutions en cascade

Un sérum trouvé positif au test de dépistage doit être retesté en suivant les étapes 5 à 13 afin de définir son titre. Inclure dans chaque nouvelle série un contrôle positif et négatif. Les dilutions en série de 2 en 2 sont réalisées à partir du 1:40. Le titre du sérum est défini par la dernière dilution donnant une fluorescence positive.

Préparation des dilutions en série

Numéroter six tubes de 1 à 6. Ajouter 3,9 ml de diluant échantillon dans le tube 1 et 0.2 ml dans les tubes 2 à 6. Pipeter 0.1ml de sérum pur dans le tube 1 et agiter soigneusement. Transférer 0.2 ml du tube 1 dans le tube suivant. Continuer à transférer 0.2 ml d'un tube à l'autre en mélangeant bien chaque tube pour arriver aux dilutions suivantes :

Tubes	1	2	3	4	5	6
Sérum	0,1 ml					
	+					
Diluant Echantillon	3,9 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
		↻	↻	↻	↻	↻
Transfert	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	
Dilution finale	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280 etc.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus dans chaque série. Le contrôle négatif ne doit pas donner d'image fluorescente spécifique. Avec le contrôle positif AMA on doit obtenir une fluorescence 2+ ou supérieure des tubules du rein. Enfin, avec le contrôle positif ANA, on doit obtenir une fluorescence 2+ ou supérieure des noyaux du rein avec une conformation principalement homogène.

Dans le cas où les contrôles ne donneraient pas les résultats attendus, il est recommandé de refaire le test. Si le problème persiste, cela peut être lié à :

- La turbidité. Eliminer le contrôle et en utiliser un nouveau.
- Au système optique du microscope. Par exemple: mauvais alignement, lampe ayant dépassé sa durée de vie, etc.
- A un assèchement des lames pendant la manipulation.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats des essais pour la recherche des anticorps des ANA, des AMA, des ASMA, AGPA et LKM doivent être considérés négatifs (< 40) ou bien positifs (avec titre plus grand ou égal à 1280) ou, en alternative positifs avec titre de point de virage spécifique.

Ne considérer que les champs comprenant une coloration spécifique des noyaux pour les ANA, des tubules de rein pour les AMA, des parois des vaisseaux sanguins pour les ASMA, des cellules pariétales gastriques pour les AGPA et des cellules parenchymateuses du foie et du rein pour les LKM. Toutes les autres réactions doivent être considérées négatives pour les ANA, AMA, ASMA, et/ou LKM.

Les ANA peuvent être détectés sur tous les substrats mais devraient être mesurés sur le rein ou les cellules HEp-2. Les conformations de coloration nucléaire observables avec le substrat de rein ou les cellules HEp-2 fournies peuvent résulter homogènes, périphériques (frangées), tachetées et en corpuscules. La conformation de coloration du centromère (Cellules en mitose incluses) est plus facilement visible sur les cellules HEp-2. Ces conformations de coloration nucléaire sont décrites ci-dessous. Elles peuvent être uniques ou constituées par une combinaison de plusieurs conformations de coloration. Ces dernières sont dues aux réactions de plusieurs antigènes nucléaires différents.

Homogène : Le noyau entier est régulièrement fluorescent avec une conformation de coloration diffuse.

Périphérique (frangée) : La membrane nucléaire se colore plus intensément avec une intensité décroissante du nucléoplasme vers le centre du noyau.

Tacheté : Texture grossière et fines taches rondes se colorent dans tout le noyau.

En corpuscules : Les nucléoles se colorent comme de multiples éléments dans le noyau.

La spécificité de certains des anticorps donnant les conformations de coloration ci-dessus peut être précisée par des essais pour des anticorps au nDNA et pour divers antigènes nucléaires extractibles. Ceux-ci peuvent être d'importance diagnostique comme énuméré dans la figure 1 à la fin de ce document.

On peut observer les AMA sur les tubes distaux et proximaux du rein, les tubes distaux se colorant de façon plus brillante. Bien que le cytoplasme des cellules pariétales gastriques se colore également, les AMA doivent être quantifiés au niveau du rein.

On peut également observer la coloration des muscularis d'estomac et des glomérules du rein avec les ASMA, mais seuls les ASMA observés sur les parois des vaisseaux sanguins du rein doivent être reportés.

Les anticorps anti-LKM montrent une coloration caractéristique en corpuscules du cytoplasme des cellules parenchymateuses du foie et des tubes proximaux du rein. Les réactions sur l'estomac sont généralement négatives.

LIMITES D'UTILISATION

Parfois un sérum ANA positif peut donner un résultat faiblement positif ou négatif à la dilution de dépistage (effet de zone). Dans ces cas douteux, les sérums devront être testés à des dilutions supérieures et, si le résultat est positif, déterminer le titre des anticorps.

Parfois la présence de deux ou plus anticorps différents dans le sérum et ayant une réactivité vis-à-vis du même substrat, peut créer des interférences pour la détection en immunofluorescence. Cela peut masquer la détection des ANA ou cacher le titre si l'anticorps qui interfère a un titre plus élevé que celui des ANA. Toutes les réactions aux ANA doivent être signalées. Un test positif aux ANA ne peut être considéré en lui-même un diagnostic de SLE. Ils se retrouvent également chez des patients présentant d'autres désordres des tissus conjonctifs et en



présence de certaines drogues telles la procainamide et l'hydralazine¹. De plus, des patients souffrant de maladies infectieuses ou malignes peuvent également résulter positifs aux ANA. Le clinicien doit interpréter un résultat de recherche par immunofluorescence indirecte positif en association avec les autres résultats de tests de laboratoire et les conditions cliniques du patient pour émettre un diagnostic.

VALEURS PREVUES

Comme présenté dans les tableaux 1, 2, 3, 4 et 5 à la fin de ce document, les tests pour la recherche d'anticorps nucléaires sont employés pour détecter le SLE et certains autres problèmes immunologiques. Les AMA se retrouvent dans plus de 90% des cas de cirrhose biliaire primaire et dans 3 à 11% des cas d'hépatite chronique. Les ASMA se retrouvent dans la majorité des cas d'hépatite active chronique et les AGPA sont généralement associés à l'anémie pernicieuse et à la gastrite atrophique chronique. Les anticorps anti-LKM se retrouvent chez un sous-groupe de patients présentant une hépatite chronique idiopathique auto-immune¹⁸⁻²⁰. Les majorités des patients présentant des anticorps anti-LKM présentent des maladies cliniques du foie. Certains patients ayant des anticorps anti-LKM peuvent souffrir d'hépatite sub-clinique ou de cancer primitif du foie. Les anticorps anti-LKM identifient un sous-groupe d'hépatite active chronique négative aux HBsAg dans laquelle les autres anticorps marqueurs sont absents. De plus, ces patients présentent de faibles niveaux de IgA dans le sérum. Voir tableau 6.

PERFORMANCES

Le Menarini™ Autoantibody Kit (rein/estomac de souris) a été comparé à un autre test de détection des anticorps par fluorescence disponible dans le commerce et utilisant le rein/estomac de souris comme substrat. La comparaison comprend : 20 échantillons de sérums positifs ANA, 19 échantillons de sérums positifs AMA, 19 échantillons de sérums positifs ASMA, 20 échantillons de sérums positifs AGPA et 38 échantillons de sérum provenant de sujets normaux. On a commencé l'analyse des sérums à une dilution 1:40 selon les procédés recommandés par le fabricant. Ceux-ci ont donné des résultats comparables récapitulés dans les tableaux 7 et 8 à la fin de ce document.

Des sérums obtenus à partir de 96 sujets normaux, de 21 patients atteints de SLE, de 17 patients présentant une sclérodermie et de 20 patients présentant un rhumatisme articulaire ont été examinés sur le kit de recherche d'anticorps antinucléaires (ANA) (sections de foie de souris) et d'autres kits disponibles dans le commerce. Des sérums ont été testés selon les procédés de test et de dilution recommandés par les fabricants. Ceux-ci ont donné des résultats comparables comme récapitulé dans le tableau 9.



REFERENCES • BIBΛIOΓPAΦIA • LITERATUR • BIBLIOGRAPHIE • BIBLIOGRAFIA

1. Tan EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their immunobiology and medicine. *Adv Immunol* 33: 167-240, 1982.
2. Kumar V, Beutner EH and Chorzelski TP. Autoimmunity of the skin. In "Concepts in Immuno-pathology", Vol 1, Cruse JM and Lewis RE Jr, Eds, Karger, Basel, 318-353, 1985.
3. Reimer G, Cornell RC and Tan EM. The biochemical nature of nuclear antigens reactive with antinuclear antibodies. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Kumar V, Eds, John Wiley and Sons, New York, 3rd Ed, 519-531, 1987.
4. Beutner EH, Kumar V, Krasny SA and Chorzelski TP. Standardization of antinuclear antibody and other immunofluorescent tests used in immunopathologic studies of the skin. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Kumar V, Eds, John Wiley and Sons, New York, 3rd Ed, 41-64, 1987.
5. Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF and Rubin RL. Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol* 47: 121-141, 1988.
6. Manns M, Gerken G, Kyriatsoulis A and Meyer zum Büschenfelde KH. Significant autoimmune markers of autoimmune liver disorders: Current status. *J Clin Lab Anal* 1: 362-370, 1987.
7. Mackay IR. Autoimmunity and the liver. *Clin Aspects Immunity* 2: 8- 17, 1988.
8. McMillan SA, Alderdice JM, McKee CM et al. Diversity of autoantibodies in patients with anti-mitochondrial antibody and their diagnostic value. *J Clin Path* 4: 232-236, 1987.
9. Gershwin ME, Coppel RL and Mackay IR. Primary biliary cirrhosis and mitochondrial autoantigens - insights from molecular biology. *Hepatology* 8: 147-151, 1988.
10. Berg PA and Klein R. Mitochondrial antigens and autoantibodies from anti-M1 to anti-M9. *Klin Wochenschr* 64: 897-909, 1986.
11. Popper H and Paronetto F. Clinical, histologic and immunopathologic features of primary biliary cirrhosis. *Springer Semin Immunopathol* 3: 339-354, 1980.
12. Berg PA and Bacon H. Serology of primary biliary cirrhosis. *Springer Semin Immunopathol* 3: 355-373, 1980.
13. Anderson P, Small JV and Sobieszek A. Studies on the specificity of smooth muscle antibodies. *Clin Exp Immunol* 22: 22-29, 1975.
14. Kurki P, Miettinen A, Linder E, Pikkarainen P, Vuaristo M and Salaspuro MP. Different types of smooth muscle antibodies in chronic active hepatitis and primary biliary cirrhosis: Their diagnostic and prognostic significance. *Gut* 21: 878-884, 1980.
15. Fisher JB and Taylor KB. The significance of gastric antibodies. *Brit J Haematol* 20: 1-7, 1971.
16. Chisholm M. Immunology of gastritis. *Clin Gastroenterol* 5: 41 9-428, 1976.
17. Bigazzi PE, Burek CL and Rose NR. Antibodies to tissue-specific endocrine, gastrointestinal and neurological antigens. In "Manual of Clinical Laboratory Immunology". Rose NR, Friedman H and Fahey JL, Eds, American Society for Microbiology, Washington DC, 762-770, 1986.
18. Beutner EH, Kumar V, Krasny SA and Chorzelski TP. Defined immunofluorescence in immunodermatology. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Kumar V, Eds, John Wiley and Sons, New York, 3rd Ed, 3-40, 1987.
19. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control, National Institutes of Health, 1993 [HHS Pub. No. (CDC) 93-8395].
20. Nisengard RJ. Antinuclear antibodies: Significance of titers. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Bean S, Eds, John Wiley and Sons, New York, 2nd Ed, 387-398, 1979.



21. Meyer zum Büschenfelde KH, Manns M and Trautman F. Autoimmunity in chronic liver diseases - relationship to SLE? In "Recent Advances in Systemic Lupus Erythematosus". Lambert PH, Perrin L, and Izui S, Academic Press, New York, 259-269, 1984.
22. Walker JG, Doniach D, Roitt IM and Sherlock S. Serologic tests in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. Lancet 1: 827, 1965.
23. Paronetto F and Popper H. Hetero-iso- and autoimmune phenomena in the liver. In "Textbook of Immunopathology", Miescher PA and Müller- Eberhard HJ, Eds, Grune and Stratton, New York, 2nd Ed, 789-817, 1976.
24. Leung PSC, Manns MP, Coppel RL, Gershwin ME. Detection of anti-mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis and liver-kidney microsomal antibodies in autoimmune hepatitis. In "Manual of Clinical Laboratory Immunology", Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, Eds, ASM Press, Washington DC, 6th Ed, 1023-1031, 2002.
25. Muratori P et al. Smooth muscle antibodies and type 1 autoimmune hepatitis. Autoimmunity. 35 (8): pp. 497–500. 2002.
26. Gatselis NK et al. Autoantibodies in HCV-treated patients. World J Gastroenterol. 11(4):482-487.2005.
27. Miller MH et al. Clinical comparison of cultured human epithelial cells and rat liver as substrates for the fluorescent antinuclear antibody test. J Rheumatol. 12 (2): 265-9. 1985.

Figure 1. Diagnostic. Significance of Antinuclear Antibodies

IF Staining Pattern	Nature of Antigen	Associated Disease
Homogeneous	Deoxyribonucleoprotein	SLE with renal involvement
Peripheral	DNA	SLE
Speckled	RNP	SLE or MCTD*
	Sm	SLE
	SS-A/SS-B	SLE or Sjögren's
	Sci-70	Scleroderma
Nucleolar	4S-6S RNA probably U3 RNA	Scleroderma
	Centromere/Kinetochores	inner and outer plates of kinetochores

*Mixed Connective Tissue Disease

Table 1: Incidence of Antinuclear Antibodies (ANA) Detected by Indirect Immunofluorescence on HEp-2 Cells

Clinical Condition	No. of Sera	% Positive
SLE	12	100
Subacute Cutaneous LE (SCLE)	7	86
Scleroderma	6	100
Rheumatoid Arthritis	10	50
Normal Controls	15	0

Table 2: Incidence of Antinuclear Antibodies (ANA) Detected by Indirect Immunofluorescence on Mouse Kidney Substrate

Clinical Condition	No. of Sera	% Positive
SLE	21	95
Scleroderma	17	82
Rheumatoid Arthritis	20	5
Normal Controls	96	0

Table 3: Incidence of Anti-Mitochondrial Antibodies (AMA) Detected by IFA on Mouse Kidney Substrate

Clinical Condition	% Positive
Primary Biliary Cirrhosis	100
Autoimmune Chronic Active Hepatitis	8
HBsAg and Chronic Active Hepatitis	0
Extrahepatic Jaundice and Other Liver Diseases	0
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	3
Rheumatoid Arthritis	0
Normal Controls	0

Adapted from Meyer zum Büschenfelde KH, et al.²¹; Walker JG, et al.²² and Paronetto F and Popper H²³.

Table 4: Incidence of Anti-Smooth Muscle Antibodies (ASMA) as Detected by IFA on Mouse Kidney Substrate

Clinical Condition	% Positive
Chronic Active Hepatitis (Type A)	50-87
Primary Biliary Cirrhosis	25
Acute Viral Hepatitis	87
Infectious Mononucleosis	87
Burkitt's Lymphoma	73
Nasopharyngeal Carcinoma	23
Hodgkin's Disease	23
Myeloproliferative Disorder	5
Warts	4
Normal Controls	3-18

Adapted from Anderson P, et al.¹³

Table 5. Incidence of Anti-Gastric Parietal Cell Antibodies (AGPA) as Detected by Indirect Immunofluorescence on Mouse Stomach Substrate

Clinical Condition	% Positive
Pernicious Anemia (PA)	85-95
Chronic Atrophic Gastritis without PA	30-60
Gastric Ulcer	25-30
Autoimmune Endocrinopathies	25-33
Sjögren's Syndrome	30
First Degree Relatives of PA Patients	30
Normal Controls	
< 20 years old	2
20-60 years old	6-8
> 60 years old	16



Table 6. Characteristics of LKM Antibody Positive Patients

	Condition	% Incidence
Sex (F/M)	4:1	
Age	Mean 34 years	
HBsAg	Negative	
Other Autoantibodies	Anti-nuclear	12%
	Anti-smooth muscle	18%
	Anti-mitochondrial	0%
	Anti-thyroglobulin	12%
	Anti-microsomal	35%
Immunoglobulin levels (gm/dl)	IgG	Normal
	IgM	Normal
	IgA	Low

Table 7. Findings in Positive Sera

	n	Negatives		Positives Titer	
		< 40	40-80	160-320	640-2560
ANA Positive Sera					
Menarini™	20	0	7	6	7
Other	20	0	7	8	5
AMA Positive Sera					
Menarini™	19	5	3	1	10
Other	19	5	3	4	7
ASMA Positive Sera					
Menarini™	19	7	8	4	0
Other	19	7	6	5	1
AGPA Positive Sera					
Menarini™	20	1	6	4	9
Other	20	2	6	7	5

Table 8. Findings in Normal Controls

	n	Negatives		Positives Titer	
		< 40	40-80	>160	
ANA Positive Sera					
Menarini™	38	33	5	0	
Other	38	36	2	0	
AMA Positive Sera					
Menarini™	38	38	0	0	
Other	38	38	0	0	
ASMA Positive Sera					
Menarini™	38	37	1	0	
Other	38	37	1	0	
AGPA Positive Sera					
Menarini™	38	37	1	0	
Other	38	37	1	0	



Table 9. Comparison of Kits Using Tissue Sections or HEp-2 Cells for the Detection of ANA

Clinical Condition	n	% Positive		
		Menarini™ Mouse Liver	Other Mouse Kidney	Other HEp-2
SLE	21	95	95	86
Scleroderma	17	82	88	77
RA	20	25	25	5
Normal Controls	96	0	0	0



A. Menarini Diagnostics S.r.l.
via Sette Santi 3
50131 Firenze
Italia

UK

UNITED KINGDOM

Distributed by

A. Menarini Diagnostics Ltd
405 Wharfedale Road
Winnersh - Wokingham
Berkshire RG41 5RA

EL

Διανέμεται στην
ΕΛΛΑΔΑ από την

A. Menarini Diagnostics S.A.
575, Vouliagmenis Ave.
16451 Argyrupolis
Attiki

ES

ESPAÑA

Distribuido por

A. Menarini Diagnostics
S.A.
Avenida del Maresme, 120
08918 Badalona
Barcelona

DE

DEUTSCHLAND

Vertrieb durch

A. Menarini Diagnostics
Eine Division der Berlin-
Chemie AG
Glienicke Weg 125
12489 Berlin

AT

ÖSTERREICH

Vertrieb durch

A. Menarini Ges.m.b.H
Pottendorfer Straße, 25/27
A - 1120 Wien

FR

FRANCE

Distribué par

A. Menarini Diagnostics
France S.A.R.L.
3-5, Rue du Jura
BP 70511
94633 Rungis Cedex

BE

BELGIQUE

Distribué par

A. Menarini Diagnostics
Benelux S.A./N.V.
Belgicastraat, 4
1930 Zaventem

IT

ITALIA

Distribuito da

A. Menarini Diagnostics
Via lungo l'Ema, 7
50012 Bagno a Ripoli
Firenze

PT

PORTUGAL

Distribuido por

A. Menarini Diagnósticos, Lda
Quinta da Fonte
Edifício D.Manuel I, 2ºB
2770-203 Paço de Arcos

NL

NEDERLAND

Distributed by

A. Menarini Diagnostics
Benelux N.V.
De Haak, 8
5555 XK Valkenswaard

EN > Revision date: April 2008

EL > Ημερομηνία αναθεώρησης: Απρίλιος 2008

ES > Fecha de revisión: Abril de 2008

DE > Datum der Überarbeitung: April 2008

FR > Date de révision: Avril 2008

IT > Data di revisione: Aprile 2008

PT > Data de revisão: Abril de 2008

Document No. PI4136 CE M

