



DETECTION DES AUTOANTICORPS

IVD ENCART DU PRODUIT

REF 37788 Cellules HEp-2 60 Tests

REF 37805 Cellules HEp-2 240 Tests

REF 37808 HEp-2/Rein- estomac de souris 48 Tests

REF 37807 Lamelle Cellules Hep-2 6 Puits

REF 37806 Lamelle Cellules Hep-2 12 Puits

REF 38446 Lamelle Hep-2/Rein /Estomac de Souris 8 Puits

Test par immunofluorescence indirecte (IF) pour la recherche et la détermination quantitative des anticorps anti-nucléaires (ANA) **REF** 37788, 37805, 37808, 37807, 37806, 38446 anticorps anti-mitochondries (AMA), anticorps anti-muscle lisse (ASMA) **REF** 37808, 38446 et anticorps anti-cellule pariétale gastrique (AGPA) **REF** 37808, 38446 dans le sérum humain.

GENERALITES

Les **Anticorps anti-nucléaires (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 cirrhoses 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.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Avec la méthode d'immunofluorescence indirecte utilisée dans ce kit, le sérum du patient est incubé sur des substrats rein/estomac de souris, ce qui permet la fixation des anticorps avec le substrat. Un lavage 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 montre la présence d'ANA, ASMA, AMA et AGPA. Le titre du sérum (la dernière dilution donnant une réaction positive) est alors déterminé par dilutions sériques successives¹⁸.

INFORMATION PRODUIT

Conservation et préparation des réactifs

Conserver 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™ cellules HEp-2 **REF** 37805, 37788

 Menarini™ HEp-2/Rein- estomac de souris **REF** 37808

Les kits contiennent les réactifs suffisants pour effectuer 240, 60 et 48 tests chacun.

5 x	SORB SLD 12	Lames 12 puits (REF 37788)
20 x	SORB SLD 12	Lames 12 puits (REF 37805)
6 x	SORB SLD 8	Lames 8 puits (REF 37808)
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. (REF 37808)
1 x 0,5 ml	CONTROL - *	Contrôle négatif, avec sérum humain.
1 x 5 ml	IgG-CONJ FITC EB *	Conjugué FITC anti-IgG humaines contenant de la contre coloration d'Evans. Maintenir à l'abri de la lumière. 1 flacon (REF 37788), 1 flacon (REF 37808), 3 flacons (REF 37805)
1 x 60 ml	BUF *	Diluant sérum. 1 flacon (REF 37788, 37808), 2 flacons (REF 37805)
2 flacons	BUF WASH	Tampon phosphate salin (PBS). Dissoudre chaque flacon pour obtenir 1 litre. 2 flacons (REF 37788, 37808), 3 flacons (REF 37805)
1 x 5,0 ml	MOUNTING MEDIUM *	Milieu de montage. Ne pas congeler 1 flacon (REF 37788, 37808), 2 flacons (REF 37805),
1 x 12	COVER SLD	Lamelles couvre-lames. 1 boîte (REF 37788), 3 boîtes (REF 37805)
1 x 12	COVER SLD LONG	Longue lamelle couvre-lame (REF 37808)

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:

Numéro de lot

Numéro de référence catalogue

A utiliser avant

Température de conservation

Lire les instructions d'utilisation

 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 (type 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 PRÉCAUTIONS

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.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

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. Éviter les congélations/décongélations successives des sérums.

MODE OPÉRATOIRE

A. Dépistage

1. Diluer chaque sérum de patient au 1:10 (REF 37808, 38446) à l'aide du diluant échantillon fourni (20µl de sérum + 180µl de diluant) ou 1:40 (REF 37788, 37805, 37807, 37806). 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 puits n°1. De la même façon déposer 1 goutte de Contrôle Positif ANA sur le puits n°2. Si cela est nécessaire, 1 goutte de contrôle positif AMA sur le puits n°3 (REF 37808, 38446). 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 puits.
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 une contre coloration est souhaitée, ajouter 2-3 gouttes de Bleu d'Evans dans le dernier bain de lavage. Répéter les opérations avec toutes les lames. REMARQUE: Un lavage incorrect peut altérer la morphologie des neutrophiles et 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 puits 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 1:10 (REF 37808, 38446) ou 1:40 (REF 37788, 37805, 37807, 37806). 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 1 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	0,9 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	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320 etc.



CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus dans chaque série. Le contrôle négatif ne doit pas donner d'image fluorescente des noyaux, du muscle lisse, des tubules du rein ou des cellules pariétales gastriques. 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.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats des essais pour la recherche des anticorps d'ANA, d'AMA, d'ASMA, et d'AGPA doivent être considérés négatifs (< 10) sur des parties de rein et d'estomac (REF 37808, 38446), négatifs (< 40) sur les cellules HEp-2 (REF 37788, 37805, 37808, 37807, 37806, 38446), positifs (plus grand ou égal à 320), ou bien positifs avec le titre.

Ne considérer que les champs comprenant une coloration spécifique des noyaux du rein et des cellules HEp-2 et la conformation observée pour les ANA, les tubules de rein pour les AMA, les parois des vaisseaux sanguins du rein pour les ASMA et les cellules pariétales gastriques uniquement pour les AGPA. Toute autre réaction doit être considérée comme négative pour les ANA, les AMA, les ASMA et/ou les AGPA.

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.
- Centromère :** Grandes taches de nombre déterminé. Les antigènes ayant réagi s'isolent avec les chromosomes condensés des cellules en mitose.

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.

Sur les cellules HEp-2, les anticorps cytoplasmiques discernables incluent les anticorps anti-mitochondriaux (AMA) et les anticorps anti-muscle lisse (ASMA). Dans une conformation AMA, le cytoplasme semble granulaire, bien que la conformation ASMA soit un réseau fibrillaire de coloration dans tout le cytoplasme. Les deux conformations doivent être signalées comme négatives pour les ANA. Les AGPA réagissent seulement sur les cellules pariétales



de l'estomac et produisent des réactions cytoplasmiques. Des réactions négatives sur le rein et positives sur l'estomac sont indicatives des AGPA.

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.

L'appât conjugué anti-IgG FITC humaines fourni dans ce kit est principalement spécifique pour les chaînes lourdes mais a une légère activité chaîne légère. Il réagit principalement avec les anticorps de la classe des IgG mais peut à un degré moindre réagir avec des chaînes légères d'autres classes d'anticorps tels les IgM.

Un ANA positif, de par lui-même, ne doit pas être considéré comme un diagnostic de SLE. Ils se retrouvent également chez les patients présentant d'autres maladies du tissu conjonctif et certaines drogues telles que la procainamide et l'hydralazine peuvent induire un ANA positif 1. D'autre part, les sérums de patients présentant des cancers et des maladies infectieuses peuvent également avoir un ANA positif 20.

Lors de son diagnostic, le médecin devrait considérer les résultats de tous les essais positifs d'immunofluorescence indirecte avec les résultats d'autres essais en laboratoire et l'état clinique du patient.

VALEURS PRÉVUES

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.

PERFORMANCES

Le Menarini™ Autoantibody Kit a été comparé à un autre test de détection des anticorps par fluorescence disponible dans le commerce et utilisant les cellules HEP-2 comme substrat. La comparaison comprend 15 échantillons de sérum provenant de sujets en bonne santé ainsi que des sérums de patients présentant un diagnostic de SLE, lupus érythémateux cutané subaigu, de sclérodermie ou d'arthrite rhumatoïde. Les sérums ont été examinés selon les procédés de détection et de dilution recommandés par le fabricant. Ceux-ci ont fournis des résultats comparables récapitulés ci-dessous :

Comparaison de Kits utilisant le substrat cellules Hep-2 pour la détection des anticorps antinucléaires.

État clinique	Nombre de sérums	% positif	
		Menarini™	Autre
SLE	12	100	100
SCLE	7	85	85
Sclérodermie	6	100	100
Arthrite rhumatoïde	10	50	30
Contrôles normaux	15	0	0

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 1:10 selon les procédés recommandés par le fabricant. Ceux-ci ont donné des résultats comparables comme récapitulé dans les Tableaux 6 et 7 à la fin de ce document.



REFERENCES • BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ • 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 Immunopathology", 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: 147-1 51, 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: 419-428, 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.

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
	Scl-70	Scleroderma
Nucleolar	4S-6S RNA probably U3 RNA	Scleroderma
Centromere/Kinetochore	inner and outer plates of kinetochore	CREST syndrome

*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. Findings in Positive Sera

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

Table 7. Findings in Normal Controls

	n	Negatives		Positives Titer	
		< 10	10-20	40-80	>160
ANA Positive Sera					
Menarini™	38	30	3	5	0
Other	38	36	0	2	0
AMA Positive Sera					
Menarini™	38	38	0	0	0
Other	38	38	0	0	0
ASMA Positive Sera					
Menarini™	38	35	2	1	0
Other	38	29	8	1	5
AGPA Positive Sera					
Menarini™	38	37	0	1	0
Other	38	37	0	1	0



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

EL

Διανέμεται στην
ΕΛΛΑΔΑ από την
A. Menarini Diagnostics S.A.
575, Vouliagmenis Ave.
16451 Argypopolis
Attiki

AT

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

BE

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

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

Date of issue: March 2007
Data de publicação: Março de 2007
Ausgabedatum: März 2007
Date d'émission : Mars 2007
Ημερομηνία έκδοσης: Μάρτιος 2007

Document No. PI4125 M

