



# Anticorps anti-Scl-70 ELISA

IVD

## ENCART DU PRODUIT

REF 37798 Anticorps Anti-Scl-70 ELISA 96 Tests

### USAGE PREVU

Technique de dosage immunoenzymatique de type ELISA destinée à la détection et la quantification des anticorps anti- Scl-70 dans le sérum humain.

### RESUME ET EXPLICATION

Les anticorps antinucléaires (ANA) se manifestent dans le sérum de patients présentant diverses affections du tissu conjonctif tel que le lupus érythémateux systémique (SLE), la connectivité mixte (MCTD), la sclérodermie, la polymyosite et le syndrome de Sjögren. Ces anticorps antinucléaires sont dirigés contre les antigènes nucléaires, comprenant l'ADN, la nucléohistone et divers antigènes nucléaires solubles (ENA) tel que RNP, Sm, SS A (Ro), SS B (La), Scl 70 et Jo-1<sup>1-9</sup>. Ces antigènes sont des complexes macromoléculaires de protéine et ARN. Les antigènes nucléaires solubles (ENA) sont des complexes ribonucléoprotéines solubles (snurps). Les anticorps anti-Sm sont spécifiques de la maladie et sont un marqueur du lupus érythémateux systémique. Les anticorps anti-Sm apparaissent chez approximativement 30-40% des patients atteints de SLE. Ils sont rares dans d'autres maladies du tissu conjonctif systémique et, s'ils sont présents, indiquent soit des formes de chevauchement ou des patients qui n'ont pas encore répondu aux critères ARA pour le lupus érythémateux systémique (SLE)<sup>1-9</sup>.

D'autres anticorps tels que ceux qui sont dirigés contre SS A (Ro), SS-B (La) et RNP ne sont pas spécifiques de la maladie. Les anticorps anti-RNP (ribonucléoprotéine) se manifestent chez 35-45% des patients atteints de SLE et chez 95% des patients atteints de connectivité mixte (MCTD). Parfois, on les retrouve également dans la sclérodermie, la polyarthrite rhumatoïde et dans le lupus érythémateux induit par des médicaments. Les anticorps de SS A (Ro) et SS-B (La) se manifestent respectivement dans approximativement 30-40% et 10-15% des patients atteints de SLE et 60-70% et 40-60% des patients atteints du syndrome de Sjögren. Les anticorps de SS-B (La) se manifestent plus fréquemment en association avec des anticorps SS A (Ro). Les anticorps anti-Scl-70 représentent un marqueur sérologique spécifique pour la sclérodermie systémique. Des fréquences variables d'anticorps Scl-70 ont été signalées. Dans les premières études, cet anticorps a été détecté chez approximativement 20% de malades atteints de sclérodermie<sup>10-12</sup> mais des études plus récentes mentionnent une incidence de 75% chez les patients atteints de sclérodermie diffuse et 75% chez les patients avec acrosclérose. Ces auto-anticorps peuvent être détectés par plusieurs méthodes, tel que diffusion sur gel, Western Blot ou ELISA.

### PRINCIPE DE LA METHODE

Le test est exécuté sous la forme d'une méthode immuno-enzymatique (solid phase enzyme labeled immunosorbent assay - ELISA). Des micropuits sont enduits d'antigène purifié Scl-70. Les régulateurs, les étalons et les échantillons de sérum des patients sont incubés dans les puits enduits d'antigène qui permettent aux anticorps spécifiques anti-Scl-70 qui sont présents dans le sérum de s'agglutiner. L'anticorps non agglutiné et les autres protéines du sérum sont éliminés en nettoyant les puits des microplaques. Les anticorps agglutinés sont détectés en ajoutant un conjugué d'anticorps à marquage enzymatique pour l'IgG antihumain aux puits. Le conjugué non-agglutiné est éliminé par lavage. La phosphatase alcaline et son substrat (pNPP) sont ensuite ajoutés aux puits et la présence d'anticorps est détectée par un changement de couleur engendré par la conversion de substrat du pNPP vers un produit de réaction coloré. La réaction est arrêtée et l'intensité du changement de la couleur, qui est proportionnelle à la concentration d'anticorps, est lue par un spectrophotomètre à 405 nm. Les résultats sont exprimés en unités ELISA par millilitre (EU)/ml.

### REACTIFS

#### Stockage et préparation

Entreposer tous les réactifs à 2-8°C. **Ne pas congeler.** Ne pas utiliser si le réactif n'est pas clair ou si un précipité



est présent. Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (20-25°C) avant l'usage. Quand elle est entreposée à 2-8°C, la solution de lavage reconstituée est stable jusqu'à la date d'expiration du kit. Reconstituer la solution de lavage en 1 litre avec de l'eau distillée ou de l'eau désionisée. Les microplaques enduites sont destinées à être utilisées une fois seulement.

### Précautions

Destiné à un usage diagnostique *in vitro*. Tous les composants humains dérivés utilisés ont été testés pour HBsAg, HCV, HIV 1 et 2 et HTLV et se sont révélés négatifs sur la base des tests qui sont exigés par l'administration FDA. Cependant, les dérivés du sang humain et les spécimens des patients doivent toujours être considérés comme étant potentiellement infectieux. Il faut appliquer de bonnes pratiques de laboratoire au cours du stockage, de la distribution et de la manipulation de ces matériel <sup>13</sup>.

**AVERTISSEMENT** – L'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) peut réagir avec les tuyauteries en plomb et en cuivre pour former des azides de métal qui sont très explosifs. Au moment de l'élimination des liquides, rincer avec de grands volumes d'eau afin de prévenir l'intensification de l'azide. L'azide de sodium peut être toxique en cas d'ingestion. En cas d'ingestion, il faut immédiatement signaler l'accident au directeur du laboratoire ou au centre antipoison.

Les instructions doivent être suivies exactement dans l'ordre dans lequel elles sont fournies dans la présente brochure de l'équipement pour garantir l'obtention de résultats valables. Il ne faut pas échanger les composants de l'équipement avec ceux qui proviennent d'autres sources, si ce n'est ceux qui portent le même numéro de catalogue d'A. Menarini Diagnostics S.r.l.. Il faut respecter de bonnes pratiques de laboratoire pour limiter la contamination microbienne et la contamination croisée des réactifs au moment de la manipulation. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

### Matériel fourni

Menarini™ anticorps Anti-Scl-70 ELISA **REF** 37798

Les kits contiennent les réactifs suffisants pour effectuer 96 tests chacun.

|            |                                            |                                                                                                                               |
|------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12 x 8     | <b>MICROPLATE</b> <b>SCL-70</b>            | <b>Micro-lamelle</b> avec micropuits individuels, revêtus d'antigène Scl-70.                                                  |
| 1 x 1,5 ml | <b>CALIBRATOR</b> <b>A</b> <b>SCL-70</b> * | <b>Calibreur A</b> ( <i>couvercle vert</i> ), prêt à l'emploi. Contient sérum humain positif anticorps anti- Scl-70.          |
| 1 x 1,5 ml | <b>CALIBRATOR</b> <b>B</b> <b>SCL-70</b> * | <b>Calibreur B</b> ( <i>couvercle violet</i> ), prêt à l'emploi. Contient sérum humain positif anticorps anti- Scl-70.        |
| 1 x 1,5 ml | <b>CALIBRATOR</b> <b>C</b> <b>SCL-70</b> * | <b>Calibreur C</b> ( <i>couvercle bleu</i> ), prêt à l'emploi. Contient sérum humain positif anticorps anti- Scl-70.          |
| 1 x 1,5 ml | <b>CALIBRATOR</b> <b>D</b> <b>SCL-70</b> * | <b>Calibreur D</b> ( <i>couvercle jaune</i> ), prêt à l'emploi. Contient sérum humain positif anticorps anti- Scl-70.         |
| 1 x 1,5 ml | <b>CONTROL</b> <b>+</b> <b>SCL-70</b> *    | <b>Régulation positive</b> ( <i>couvercle rouge</i> ), prêt à l'emploi. Contient sérum humain positif anticorps anti- Scl-70. |
| 1 x 1,5 ml | <b>CONTROL</b> <b>-</b> *                  | <b>Régulation négative</b> ( <i>couvercle blanc</i> ), prêt à l'emploi. Contient sérum humain.                                |
| 1 x 12 ml  | <b>IgG-CONJ</b> <b>ALKPHOS</b> *           | <b>Conjugué Alk. phos. anti-IgG humaines</b> . Code couleur rose.                                                             |
| 1 x 60 ml  | <b>DIL</b> *                               | <b>Diluant pour sérum</b> prêt à l'emploi. Code couleur bleue.                                                                |
| 1 x 12 ml  | <b>SUBSTRATE</b> *                         | <b>Substrat enzymatique</b> prêt à l'emploi. Contient du pNPP. Protéger de la lumière.                                        |

1 x 12 ml

**STOP**

Solution d'arrêt prête à l'emploi.

2 x

**BUF****WASH**

Tampon de lavage en poudre. Reconstituer pour 1 litre/flacon.

\* Contient <0.1% NaN<sub>3</sub>**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**

- Eau distillée ou désionisée
- Pissette en plastique pour contenir la solution de lavage diluée ou dispositif de lavage de microplaques automatique en mesure de dispenser 200 µl
- Pipettes en mesure de délivrer de 5 µl à 1000 µl
- Bouchons de pipette jetables
- Éprouvettes de test propres 12 x 75 mm et porte-éprouvettes de test
- Compte-minutes
- Serviettes de papier absorbant
- Lecteur de microplaque en mesure de lire des valeurs d'absorption à 405 nm. Si un lecteur de microplaque à double longueur d'onde est disponible, le filtre de référence doit être placé à 600-650 nm.

**RECOLTE DES SPECIMENS ET MANIPULATION**

Seuls des spécimens de sérum doivent être utilisés dans cette procédure. Des spécimens grossièrement hémolysés, lipémiques ou atteints de contamination microbienne peuvent avoir une influence sur les résultats de l'essai et ne devraient pas être utilisés. Entreposer les spécimens à 2 - 8°C pendant un laps de temps qui ne doit pas dépasser une semaine. Dans le cas d'un stockage plus long, les spécimens de sérum devraient être congelés. Éviter des congélations et des décongélations répétées des échantillons.

**PROCEDURE****Notes de procédure**

- Avant de commencer le test, lire avec soin la brochure qui accompagne le produit.
- Conserver les spécimens de sérum et les réactifs de test à température ambiante avant d'entreprendre la procédure de test. Remettre immédiatement tous les spécimens inutilisés et les réactifs au réfrigérateur après usage.
- Toutes les dilutions des échantillons des patients doivent être préparées avant de commencer l'essai.
- Le recours à une bonne technique de lavage s'avère fondamentale. Si le lavage est réalisé manuellement, il est fait de manière adéquate en dirigeant un puissant flux de solution de lavage avec un flacon-laveur à

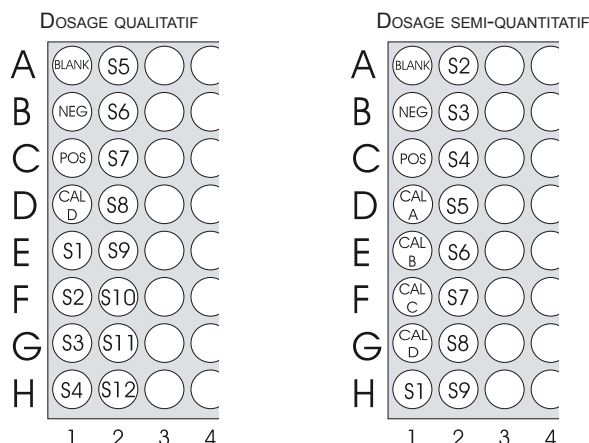


pointe large à travers toute la microplaque. On conseille de recourir à un dispositif automatique de lavage de la microplaque.

- Utiliser une pipette multicanaux en mesure de délivrer simultanément sur 8 puits. Cela accélère le processus et permet d'obtenir une période d'incubation plus constante.
- À chaque étape, un contrôle soigneux du chronométrage s'avère important. Le début des périodes d'incubation commence quand l'addition du réactif a eu lieu.
- L'addition de tous les échantillons et des réactifs doit avoir lieu au même taux et selon la même séquence.
- Enlever les bandes des microplaques à puits nécessaires du sachet et refermer avec soin le sachet afin de prévenir la condensation dans les puits inutilisés. Remettre immédiatement le sachet dans le réfrigérateur.

### Méthode de test

- Etape 1** Laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante.
- Etape 2** Étiqueter la feuille de protocole pour indiquer le placement de l'échantillon dans les puits. Une bonne pratique de laboratoire consiste à traiter les échantillons en double.
- Etape 3** Pour une détermination qualitative, utiliser seulement l'Etalon Bas D prêt à l'emploi (flacon avec couvercle jaune).  
**ou** Pour un **dosage semi-quantitatif**, utiliser les Etalons A à D prêts à l'emploi comme montré dans le schéma d'échantillon figurant ci-dessous.



- Etape 4** Préparer une dilution **1:101** de spécimen patient en pipétant 5 de sérum dans **0.5 ml** de diluant de sérum. **Bien mélanger.**
- Etape 5** Enlever les microplaques à puits nécessaires du sachet de bourse et remettre les bandes inutilisées dans le sachet scellé au réfrigérateur. Placer solidement les microplaques à puits dans le support fourni comme accessoire.
- Etape 6** Pipeter **100 µl** des étalons prêts à l'emploi, des régulateurs positifs et négatifs et des échantillons patients dilués dans les puits appropriés conformément au feuillet de protocole.  
**Note :** Inclure un puits qui contient **100 µl** du diluant de sérum à titre de réactif blanco. Mettre à zéro le lecteur ELISA sur le réactif blanco. L'absorption du réactif blanco ne doit pas être supérieure à 0,3 quand elle est mesurée par rapport à l'air.
- Etape 7** Incuber pendant **30 minutes** (± 5 min) à température ambiante.
- Etape 8** Laver **4x** avec de la solution de lavage. En cas de lavage manuel, remplir chaque puits avec de la solution de lavage reconstituée. Éliminer le fluide en renversant et en tapotant le contenu de chaque puits ou en aspirant le liquide de chaque puits. Pour absorber à la fin du dernier lavage, renverser les bandes et tapoter vigoureusement les puits sur les serviettes de papier absorbant. Dans le cas de dispositifs de lavage automatiques, programmer le dispositif de lavage en suivant les instructions du fabricant.



- Etape 9** Pipeter **100 µl** de conjugué dans les microplaques à puits.
- Etape 10** Incuber pendant **30 minutes** (± 5 min) à température ambiante.
- Etape 11** Laver tous les puits comme décrit dans l'étape 7.
- Etape 12** Pipeter **100 µl** de substrat d'enzyme dans chaque puits dans le même ordre et chronométrage que pour le conjugué.
- Etape 13** Incuber pendant **30 minutes** (± 5 min) à température ambiante.
- Etape 14** Pipeter **100 µl** de Solution d'arrêt dans chaque puits en ayant recours au même ordre et au même chronométrage que pour l'addition du substrat d'enzyme. Lire les taux d'absorption dans un laps de temps de 1 heure après l'addition de la solution d'arrêt.
- Etape 15** Lire l'absorption de chaque puits à **405 nm** en utilisant un lecteur de microplaques à simple ou à double longueur d'onde 405/630nm par rapport au réactif blanco programmé sur une absorption zéro.

### Contrôle de qualité

L'étalon, des régulateurs positif et négatif et un réactif blanco doivent être utilisés lors de chaque test pour vérifier l'intégrité et l'exactitude du test. La lecture de l'absorption du réactif blanco doit être inférieure à 0,3. L'étalon A doit présenter une mesure de l'absorption qui ne doit pas être inférieure à 1,0, sans quoi le test doit être recommencé. Le contrôle négatif doit être inférieur à 20 EU/ml. Si le test est effectué en double, la moyenne des deux lectures doit être prise en considération pour déterminer EU/ml. Quand on procède aux dosages qualitatifs, l'absorption de l'Etalon D doit être supérieure à celle du régulateur négatif et inférieure à l'absorption du régulateur positif. Pour les dosages semi-quantitatifs, le régulateur positif doit fournir des valeurs dans la plage figurant sur le flacon.

### RESULTATS

#### Calculs

Les concentrations des échantillons patients peuvent être déterminées par l'une ou l'autre de ces deux méthodes :

#### 1. DOSAGE QUALITATIF

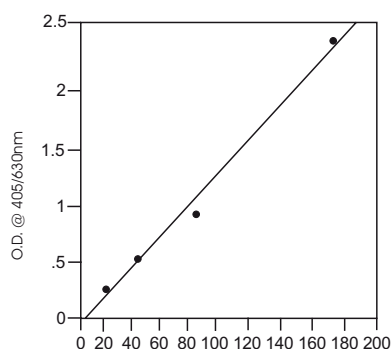
**Abs. de l'échantillon d'essai**

----- X EU/ml de l'étalon D = EU/ml échantillon d'essai

**Abs. de l'étalon D**

#### 2. DOSAGE SEMI-QUANTITATIF

Relever l'absorption des étalons A à D par rapport à leur concentration respective sur un papier quadrillé linéaire-linéaire. Relever la concentration en EU/ml sur l'axe des abscisses contre l'absorption sur l'axe des ordonnées et tracer la courbe optimale. Déterminer les concentrations des échantillons patients de la courbe par rapport à la valeur d'absorption correspondante.



**Etalon**

Les étalons prêts à l'emploi sont inclus pour fournir la semi-quantification et doivent être utilisés à chaque opération. Les échantillons patients qui contiennent les niveaux d'anticorps les plus élevés peuvent produire des taux d'absorption plus élevés que ceux de l'étalon A. Pour déterminer des valeurs semi-quantitatives précises, ces échantillons de sérum doivent en outre être dilués de telle manière qu'ils s'inscrivent dans la plage de la courbe de l'étalon quand on refait le test. Pour la détermination EU/ml, multiplier les unités obtenues par le facteur de dilution.

**Interprétation**

Ce qui figure ci-dessous sert uniquement comme guide pour l'interprétation des résultats. Chaque laboratoire doit déterminer ses propres valeurs normales. Celles-ci peuvent varier en fonction de la population examinée. Celles-ci peuvent varier en fonction de la population examinée.

**anti-ScI-70 conc. Interprétation**

|             |                          |
|-------------|--------------------------|
| <20 EU/ml   | Négatif                  |
| 20-25 EU/ml | Indéterminé (cas limite) |
| >25 EU/ml   | Positif                  |

**LIMITES DE LA PROCEDURE**

Les résultats obtenus à l'aide du test Menarini™ anti-ScI-70 servent seulement comme aide pour poser le diagnostic général et ne devraient pas être interprétés comme un diagnostic par eux-mêmes.

# REFERENCES • BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ • LITERATUR • BIBLIOGRAPHIE • BIBLIOGRAFIA

1. Tan EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): their immunobiology and medicine. *Adv Immunol*; 1982, 33:167-240.
2. Tan EM. Special antibodies for the study of systemic lupus erythematosus. *Arth Rheum*; 1982, 25:753-756.
3. Tan EM, Chan E, Sullivan KF and Rubin RL. Antinuclear antibodies (ANAs): diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin Immun Immunopath*; 1988, 47:121-141.
4. Reichlin M. Current perspectives on serological reactions in SLE patients. *Clin Exp Immunol*; 1981, 44:1-10.
5. Reichlin M and Harley JB. Antibodies to extractable nuclear antigens: clinical significance. In "Immunopathology of the Skin", Beutner EH, Chorzelski TP and Kumar V, Eds, John Wiley and Sons, New York, 3rd Ed; 1987, 555-563.
6. Kumar V, Beutner EH and Chorzelski TP. Autoimmunity and the skin. In "Concepts in Immunopathology", Vol 1, Cruse JM and Lewis RE, Eds, Karger, Basel; 1985, 318-353.
7. McCarty GA. Autoantibodies and their relation to rheumatic diseases. *Medical Clinics of North America*; 1986, 70:237-261.
8. Hardin JA. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arth Rheum*; 1986, 29:457-460.
9. Williamson GG and Boyle JA. Antigenic relatedness of small ribonucleoprotein particles. *Biochem Biophys Acta*; 1984, 798:149-155.
10. Tan EM. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol*; 1989, 44:93-151.
11. Jarzabek-Chozelska M et al. Scl-70 antibody - a specific marker of systemic sclerosis. *Br J Dermatol*; 1986, 115:393-401.
12. Kumar V, Beutner EH, Dabski K, Steger R and Koelle M. A standardized method of detecting antibodies to extractable nuclear antigens (RNP and Sm) by gel precipitation. *J Clin Lab Immunol*; 1984, 15:163-166.
13. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories Centers for Disease Control, National Institutes of Health; 1993, (HHS Pub. No{CDC} 93-8395).



 **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 Argypoulis  
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. PI4150 CEI M

