

# Seraline<sup>®</sup> ANA-12 IgG

Line Immunoassay zum qualitativen Nachweis von IgG-Autoantikörpern gegen 12 nukleäre und zytoplasmatische Antigene in Serum oder Plasma humanen Ursprungs



LIA-002-12 G



20



In-vitro-Diagnostikum



Seramun Diagnostica GmbH • Spreehagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •  
T +49 33767 791-10 • [info@seramun.com](mailto:info@seramun.com) • [www.seramun.com](http://www.seramun.com)



Eindeutige Produktidentifizierung



In-vitro Diagnostikum



Hersteller



Land der Herstellung und Datum der Herstellung



Nicht wiederverwenden



Seriennummer



Begrenzung der Luftfeuchtigkeit



Vor Sonnenlicht schützen



Artikelnummer



Gebrauchsanweisung beachten



Verwendbar bis



Chargennummer



Ausreichend für  $n$  Prüfungen



Biologisches Risiko



Temperaturbereich



Achtung

## Zweckbestimmung

Seraline® ANA-12 IgG ist ein IVD-Test zur qualitativen Bestimmung von Autoantikörpern des IgG-Isotyps gegen die nukleären und zytoplasmatischen Antigene dsDNA, Nukleosomen, Sm, P0, Histone, U1-snRNP, Ro/SS-A (52 kDa), Ro/SS-A (60 kDa), La/SS-B, Scl-70, CENP-B und Jo-1 in humanem Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Der Test kann angewendet werden in Kombination mit dem Zubehör Seraline®scan (Software).

Er dient der Diagnosehilfe einer systemischen Autoimmunerkrankung in Proben von Patienten mit Verdacht auf das Vorliegen einer Kollagenose, zu denen die Krankheitsbilder Myositis, Sjögren-Syndrom (SS), systemischer Lupus erythematoses (SLE) und systemische Sklerodermie (SSc) zählen.

Der Test darf nicht verwendet werden mit anderen Probenmaterialien als Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs, zu Screening, Überwachung, Vorhersage, Diagnose, Prognose, als therapiebegleitendes Diagnostikum, in patientennaher Umgebung und durch Laienanwender.

## Testprinzip

Seraline® ANA-12 IgG Test ist ein Line Immunoassay (Membranimmunassay).

**Die Reaktion zum Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt in 3 Schritten:**

### Schritt 1

Inkubation der zu untersuchenden Proben zusammen mit Teststreifen bei Raumtemperatur für 45 min in einer Verdünnung von 1 : 101. Entfernung der nicht gebundenen Probenbestandteile durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer (WIB).

### Schritt 2

Inkubation der Teststreifen für 45 min bei Raumtemperatur mit HRP-markierten Konjugatantikörpern. Entfernung der nicht gebundenen Konjugatantikörper durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit WIB.

### Schritt 3

Inkubation der Teststreifen bei Raumtemperatur für 10 min mit Substrat. Die gebundenen HRP-Moleküle des Konjugats setzen das Substrat unter Ausbildung blauer Präzipitate um.

Stoppen der Reaktion durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit deionisiertem Wasser. Entfernung der Restflüssigkeit durch Trocknen der Teststreifen zwischen Filterpapier. Die Färbung der entwickelten Streifen ist bei dunkler Lagerung stabil.

Kleben der entwickelten Teststreifen auf das Auswertetemplate. Dabei die Funktionskontrolle der Teststreifen exakt auf die im Auswertetemplate vorgedruckte Trennlinie legen.

Identifizierung der gefärbten Antigenbanden auf den getrockneten Teststreifen durch Anlegen der Auswerteschablone. Bestimmung des Testergebnisses entsprechend den Auswertekriterien und die Dokumentation der identifizierten Banden im Auswertetemplate.

Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und die Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

## Testkomponenten (Lieferumfang)

Für 20 Bestimmungen:

1	TESTSTR	<b>Teststreifen mit Auswerteschablone</b> Spezifische Antigene auf Nitrozellulose-Membran (s. verwendete Antigene)	<b>20 Streifen</b> Farbmarkierung: violett in einem Faltheft im Druckverschlussbeutel
2	WIB (5x)	<b>Wasch- und Inkubationspuffer (5x)</b> Seramun® Wash and incubation buffer (5x) Wässrige Pufferlösung	<b>70 mL Konzentrat</b> für 350 mL verdünnte Lösung, farblos, schwarze Kappe
3	CONJ HRP IgG	<b>Anti-human IgG-HRP-Konjugat</b> anti-human IgG-HRP	<b>35 mL</b> gebrauchsfertig, rot gefärbt, rote Kappe
4	SUBSTR	<b>Substrat</b> SeramunBlau® prec <0,1 % 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin	<b>35 mL</b> gebrauchsfertig, farblos-hellgelb, blaue Kappe
5	INCUTRAY	<b>Inkubationswanne mit Deckel</b>	2 Stück
6	TEMPLATE	<b>Auswertetemplate</b>	1 Stück
7		<b>Analysenzertifikat</b>	1 Stück
8		<b>Gebrauchsanleitung</b>	1 Stück

## Verwendete Antigene

Bezeichnung	Beschreibung	Klinische Relevanz
<b>dsDNA</b>	doppelsträngige DNA	Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), Aktivitäts- und Prognosemarker, ACR/EULAR* Klassifizierungskriterium (2019) Lupus Nephritis (LN) Neuropsychiatrischer Systemischer Lupus Erythematoses (NPSLE) Sjögren-Syndrom (SS) Sklerodermie (SSc)
<b>Nukleosomen</b>	Strukturkomponente des Chromatins	Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) Lupus Nephritis (LN) Medikamenten-Induzierter Lupus Erythematoses (DILE) Gemischte Bindegewebkrankheit (MCTD)
<b>Sm</b>	Smith Antigen/ Ribonukleoprotein	Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), diagnostischer Marker, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2019) Lupus Nephritis (LN), Prognosemarker
<b>P0</b>	Ribosomales Phosphoprotein	Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) Neuropsychiatrischer Systemischer Lupus Erythematoses (NPSLE) Lupus Nephritis (LN)

<b>Bezeichnung</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Klinische Relevanz</b>
<b>Histone</b>	Grundbaustein der Nukleosomen	Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) Medikamenten-Induzierter Lupus Erythematoses (DILE) Lupus Nephritis (LN)
<b>U1-snRNP</b>	Multienzymkomplex aus drei U1-spezifischen Proteinen	Gemischte Bindegewebekrankheit (MCTD), diagnostischer Marker Gemischte Bindegewebekrankheit (MCTD)/ Myositis-Overlap-Syndrom Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) Systemischer Lupus erythematoses (SLE)/ Sklerodermie (SSc) Sjögren-Syndrom (SS)
<b>Ro/SS-A (60 kDa)</b>	60 kDa Ribonukleoprotein/ Sjögren-Syndrom Antigen A	Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), frühdiagnostischer Marker Medikamenten-induzierter Lupus Erythematoses (DILE) Neonataler Lupus Erythematoses (NLE) Sjögren-Syndrom (SS), frühdiagnostischer Marker, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2016) Sklerodermie (SSc)
<b>Ro/SS-A (52 kDa)</b>	52 kDa Ribonukleoprotein/ Sjögren-Syndrom Antigen A	Sjögren-Syndrom (SS), frühdiagnostischer Marker, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2016) Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), frühdiagnostischer Marker Neonataler Lupus Erythematoses (NLE) mit Kongenitalem Herzblock (CHB) Medikamenten-Induzierter Subakut Kutaner Lupus Erythematoses (DI-SCLE) Lupus Nephritis (LN) Myositis Sklerodermie (SSc)
<b>La/SS-B</b>	Phosphoprotein/ Sjögren-Syndrom Antigen B	Sjögren-Syndrom (SS), frühdiagnostischer Marker Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), frühdiagnostischer Marker Neonataler Lupus Erythematoses (NLE)/ Kongenitaler Herzblock (CHB) Medikamenten-Induzierter Subakut Kutaner Lupus Erythematoses (DI-SCLE) Lupus Nephritis (LN)
<b>Sci-70</b>	DNA Topoisomerase I	Sklerodermie (SSc) CREST-Syndrom, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2013) Sklerodermie (SSc) Myositis-Overlap-Syndrom
<b>CENP-B</b>	Protein des Kinetochors/ Zentromer B	Sklerodermie (SSc) CREST-Syndrom, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2013)
<b>Jo-1</b>	Histidyl-tRNA Synthetase	Idiopathische autoimmune Myositiden, diagnostischer Marker Polymyositis (PM) Anti-Synthetase-Syndrom Dermatomyositis (DM)

\* ACR American College of Rheumatology, EULAR European League Against Rheumatism

## Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Einkanal-Mikropipette und Pipettenspitzen für 15 µL und 1500 µL • Kunststoffpinzette • Messzylinder und Bechergläser • Teströhrchen für die Probenverdünnung • Wipp-Schüttler • Filterpapier • Klebestift • Absaugsystem mit Auffanggefäß für infektiöse Lösungen • deionisiertes Wasser • Stoppuhr

Optional:

Flachbettscanner • Evaluierungssoftware Seraline<sup>®</sup>scan • automatisches Bearbeitungsgerät

## Wichtige Hinweise



**Dieses Testbesteck ist nur zum *in-vitro* Gebrauch bestimmt** und darf nur durch einen Fachanwender in Laborumgebung durchgeführt werden.

Die Gebrauchsanleitung ist strikt einzuhalten. Das Testbesteck oder seine geöffneten Reagenzien sind nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen zu verwenden. Komponenten aus beschädigten Verpackungen und Flaschen dürfen nicht verwendet werden. Die Komplettierung eines geöffneten Testbestecks mit Reagenzien anderer Hersteller ist nicht erlaubt.

**Das Mischen von Testbesteckkomponenten verschiedener Chargen ist nur für die Komponenten Wasch- und Inkubationspuffer (5x) und Substrat erlaubt.**

Alle im Zusammenhang mit dem Seraline<sup>®</sup> ANA-12 IgG auftretenden schwerwiegenden Vorkommnisse sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen sind, zu melden.

### Arbeitsplatzanforderungen:

Für die Durchführung von Line Immunoassays wird ein sauberer und faserfreier Arbeitsplatz benötigt. An den Teststeifen anheftende Fasern führen zu fehlerhaften Resultaten. Arbeitsplatz und Kit-Komponenten sollten nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzt sein.

### Hinweise zur Testdurchführung:

Die Lagertemperatur der Reagenzien bis zur Wiederverwendung beträgt 2...8 °C. Alle Testkomponenten vor Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen.

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!

Die Reihenfolge der Pipettierschritte und die Dauer der Wasch- und Inkubationsschritte sind einzuhalten.

Blasenbildung beim Pipettieren vermeiden, dies führt zu Auswertungsfehlern.

### Sicherheitshinweise

Reagenzien nicht verschlucken und Kontakt mit Schleimhäuten vermeiden.

Einige Reagenzien können Biozide als Konservierungsmittel enthalten.

Beim Umgang mit den Komponenten des Testbestecks sowie mit den Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung beim Umgang mit potenziell infektiösem Material und gefährlichen Chemikalien zu beachten.

Zusätzliche Informationen über die Angaben in dieser Gebrauchsanleitung hinaus finden sich im Sicherheitsdatenblatt.

Das Produkt enthält folgende gefahrenbestimmende Substanz/en.

TESTSTR	-	Enthält Material tierischen und mikrobiologischen Ursprungs.
WIB (5x)	EUH208 EUH210	Enthält Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen Ursprungs.
CONJ HRP	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen und mikrobiologischen Ursprungs.
SUBSTR	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

### Grenzen der Methode

Eine Interpretation des Ergebnisses soll nur in enger Verbindung mit klinischen Befunden erfolgen. Im Einzelfall können Wiederholungsuntersuchungen in mehrwöchigem Abstand hilfreich sein. In einer frühen Infektionsphase ist es möglich, dass Antikörper noch nicht oder nur in nicht nachweisbaren Mengen vorhanden sind. Kontaminationen der Reagenzien oder der Proben durch Bakterien oder Pilze können zu inkorrekten Ergebnissen führen.

Die Verwendung von kontaminierten Proben kann die Hintergrundfärbung der Streifen erhöhen und darüber hinaus zu falschen Ergebnissen führen.

In Ausnahmefällen, z. B. Hypergammaglobulinämien, dem Vorhandensein von zirkulierenden Immunkomplexen oder Milcheiweiß-Antikörpern, kann sich der Hintergrund der Streifen sehr schnell blau färben. In solchen Fällen ist die Farbreaktion vorzeitig durch 3-maliges Spülen mit deionisiertem Wasser zu stoppen.

## Behandlung der Proben

### Probennahme

Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs in geeignetem Gefäß sammeln.

### Probenhaltbarkeit und -lagerung

Serum oder Plasma humanen Ursprungs maximal 48 Stunden bei 2...8 °C lagern. Bei längerer Aufbewahrung sind die Proben bei < -15 °C zu lagern. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Es ist zu beachten, dass Antikörper in Verdünnungen evtl. nicht stabil sind, was zu einem Aktivitätsverlust führen kann.

### Probenvorbereitung

*Serum/Plasma:*

Vor der Verwendung die Proben auf RT erwärmen. Grundsätzlich sollte durch kurzes Aufschütteln die Homogenität gesichert werden.

Serum- oder Plasmaprobe 1 : 101 (v/v) (15 µL Probe und 1500 µL verdünnter Wasch- und Inkubationspuffer (hergestellt aus WIB (5x)) in der Inkubationswanne verdünnen.

## Behandlung der Reagenzien

### Reagenzienhaltbarkeit und -lagerung

Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzienflaschen und Teststreifen ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8 °C bis zu 2 Monate haltbar. Der verdünnte Wasch- und Inkubationspuffer ist bei 2...8 °C bis zu 1 Monat verwendbar.

## Reagenzienvorbereitung

Vor dem Testansatz sind alle Reagenzien auf Raumtemperatur zu erwärmen. Nicht benötigte Teststreifen in den Beutel zurücklegen und verschließen.

**Wasch- und Inkubationspuffer WIB (5x)** 1 : 5 (v/v) mit deionisiertem Wasser verdünnen.

Beispiel: 70 mL WIB (5x) + 280 mL deionisiertes Wasser. Der verdünnte Wasch- und Inkubationspuffer ist vor Verwendung gründlich zu durchmischen, Schaumbildung vermeiden!

Das **Substrat** ist vor direktem Lichteinfall zu schützen.

## Testdurchführung

Die Durchführung erfolgt bei Raumtemperatur (RT, 18...25 °C). Alle gebrauchsfertigen Testreagenzien und der verdünnte Waschpuffer **auf Raumtemperatur erwärmen**.

Teststreifen mit einer Kunststoffpinzette so in die Inkubationswanne legen, dass die aufgedruckten Nummern nach oben zeigen.

Alle Inkubationsschritte sollten auf einem Wipp-Schüttler mit einer empfohlenen Schüttelfrequenz von 20 bis 30 Rotationen pro Minute erfolgen.

Die Reihenfolge der Pipettierschritte und deren Durchführung im Zeittakt sind einzuhalten.

1. Teststreifen **TESTSTR** mit **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer **5 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
2. **15 µL** Probe zugeben.
3. Wanne mit Deckel **INCUTRAY** abdecken und **45 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
4. Lösungen absaugen und Teststreifen **3x 5 min** mit jeweils **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer waschen.
5. **1,5 mL** Konjugat **CONJ HRP IgG** zugeben.
6. Wanne mit Deckel abdecken und **45 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
7. Lösungen absaugen und Teststreifen **3x 5 min** mit jeweils **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer waschen.
8. Teststreifen mit **1,5 mL** **SUBSTR** **10 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
9. Substrat absaugen und Teststreifen **3x** mit **1,5 mL** deionisiertem Wasser spülen.
10. Die Teststreifen nach dem Abstoppen zwischen Filterpapier **trocknen** und anschließend auswerten.

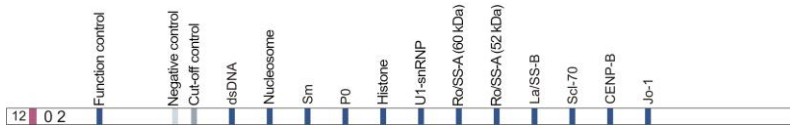
## Auswertung der Ergebnisse

### Gültigkeitskriterien für den Test

Auf jedem Teststreifen Seraline® ANA-12 IgG sind 3 Kontrollbanden aufgetragen:

1. Die Funktionskontrolle muss sichtbar sein.
2. Die Intensität der Negativkontrolle muss kleiner als die der Cut-off Kontrolle sein.
3. Die Cut-off Kontrolle muss sichtbar sein (Bandenintensität dient der Bewertung der diagnostischen Banden als positiv oder negativ).

Der Test kann ausgewertet werden, wenn die Funktionskontrolle und die Cut-off-Kontrolle sichtbar sind.



Sind die Gültigkeitskriterien nicht erfüllt, muss der Testansatz wiederholt werden. Die Abarbeitung muss gemäß Gebrauchsanleitung erfolgen (korrekte Reagenzienvorbereitung, korrekte Inkubationszeiten und -temperaturen, sorgfältiges Waschen). Sollten die Gültigkeitskriterien auch nach wiederholtem Testansatz nicht erfüllt sein, ist der Hersteller zu kontaktieren.

Die Testauswertung nur an trockenen Streifen durchführen. Die Teststreifen vor direktem Sonnenlicht schützen. Die Zuordnung der Banden mit Hilfe der beiliegenden Auswerteschablone durchführen. Die identifizierten Banden im Auswertetemplate dokumentieren.

Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und automatische Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

## Interpretation der Ergebnisse

Es werden nur Banden als positiv bewertet, die eine Intensität  $\geq$  der Cut-off Kontrolle zeigen.

Bewertung	Bewertungskriterium
Positiv	Farbintensität der Banden $\geq$ Cut-off Kontrolle
Negativ	Farbintensität der Banden $<$ Cut-off Kontrolle



## Leistungsmerkmale

### Interferierende Substanzen

Alle getesteten Substanzen haben keine signifikanten Auswirkungen auf die Testergebnisse, wenn sie in stark erhöhten Konzentrationen im Serum vorhanden sind: Bilirubin C und F (Simulation ikterischer Proben) je 20 mg/dL, Hämoglobin (Simulation hämolytischer Proben) 500 mg/dL, Lipide (Triglyceride) (Simulation lipämischer Proben) 1000 mg/dL und Rheumafaktor 500 IU/mL.

### Diagnostische Sensitivität

Zur Bestimmung der Sensitivität des Seraline® ANA-12 IgG wurden n = 71 vorcharakterisierte Proben untersucht.

Klinischer Befund	Anzahl [n]	Sensitivität [%]
Systemische Lupus Erythematodes (SLE)	42	86,0
Sklerodermie (SSc)	20	95,0
Gemischte Bindegewebskrankheit (MCTD)	2	100
Myositis	7	100

### Diagnostische Spezifität

Zwei unabhängige Kollektive von n = 120 bzw. n = 46 Blutspenderseren wurden zur Ermittlung der Spezifität in Seraline® ANA-12 IgG untersucht.

Blutspender	Anzahl [n]	Spezifität [%]
Kollektiv 1	120	97,0
Kollektiv 2	46	95,0
<b>Gesamt</b>	<b>166</b>	<b>96,0</b>

### Vergleichende Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der vergleichenden Sensitivität und Spezifität wurden n = 160 vorcharakterisierte Proben untersucht. Die vergleichende Sensitivität und Spezifität wurde im Vergleich zum Referenztest im Seraline® ANA-12 IgG bestimmt.

Antigen	Sensitivität** [%]	Spezifität [%]	Übereinstimmung [%]
dsDNA	90,9 (30/33)	98,4 (125/127)	96,9 (155/160)
Nukleosomen	71,0 (22/31)	99,2 (128/129)	93,8 (150/160)
Sm	96,2 (25/26)	99,3 (133/134)	98,8 (158/160)
P0	85,3 (29/34)	100 (126/126)	96,9 (155/160)
Histone	87,5 (28/32)	96,9 (124/128)	95,0 (152/160)
U1-snRNP	91,4 (32/35)	99,2 (124/125)	97,5 (156/160)
Ro/SS-A (60 kDa)	100 (78/78)	95,1 (78/82)	97,5 (156/160)
Ro/SS-A (52 kDa)	100 (71/71)	100 (89/89)	100 (160/160)
La/SS-B	100 (42/42)	97,5 (115/118)	98,1 (157/160)
Scl-70	100 (22/22)	100 (138/138)	100 (160/160)
CENP-B	100 (21/21)	100 (139/139)	100 (160/160)
Jo-1	61,9 (13/21)	100 (139/139)	95,0 (152/160)

\*\*Alle diskrepanz bestimmten Proben wurden zusätzlich in einem zweiten, unabhängigen Vergleichstest überprüft. Dabei konnten 3 von 5 (dsDNA), 1 von 10 (Nukleosomen), 2 von 2 (Sm), 3 von 5 (P0), 2 von 8 (Histone), 4 von 4 (U1-snRNP), 3 von 4 (Ro/SS-A (60 kDa)), 2 von 3 (La/SS-B), und 7 von 8 (Jo-1) diskrepanz Proben bestätigt werden.

## Applikation

### Software gestützte Auswertung

Die Auswertung erfolgt visuell mittels einer beiliegenden Schablone. Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und die Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.


## Änderungshistorie












Version	Abschnitt	Änderungen
2023-01_v01	Gesamtes Dokument	Aktualisierung der Zweckbestimmung Umstellung der Teilabschnitte Einfügen der Sicherheitshinweise

## Seraline<sup>®</sup> ANA-12 IgG

Line Immunoassay for the qualitative detection of IgG-autoantibodies directed against 12 nuclear and cytoplasmic antigens in serum or plasma of human origin

**REF** LIA-002-12 G  $\nabla$  20  
**IVD** In-vitro-diagnostic medical device **CE**

 **Seramun Diagnostica GmbH** • Sprenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •  
T +49 33767 791-10 • [info@seramun.com](mailto:info@seramun.com) • [www.seramun.com](http://www.seramun.com)

<b>IVD</b> In-vitro diagnostic medical device	<b>UDI</b> Unique device identifier	 Manufacturer
 Country of manufacture and date of manufacture	<b>REF</b> Article number	<b>SN</b> Serial number
 Keep away from sunlight	 Humidity limitation	<b>LOT</b> Batch code
 Consult instructions for use	 Temperature limit	 Do not reuse
 Sufficient for <i>n</i> tests	 Biohazard	 Use-by date
		 Attention

## Intended Use

Seraline® ANA-12 IgG is an IVD assay for the qualitative determination of antibodies of the IgG isotype against the nuclear and cytoplasmic antigens dsDNA, Nucleosome, Sm, P0, Histone, U1-snRNP, Ro/SS-A (52 kDa), Ro/SS-A (60 kDa), La/SS-B, Scl-70, CENP-B and Jo-1 in human serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) by a laboratory professional user.

The test can be used in combination with accessory Seraline®scan (Software).

It is intended to aid in the diagnosis of collagenoses, which include myositis, Sjogren's syndrome (SS), systemic lupus erythematosus (SLE), and systemic sclerosis (SSc) in samples from patients with suspected systemic autoimmune disease.

The test must not be used with specimen materials other than serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin, for screening, monitoring, prediction, diagnosis, prognosis, as a companion diagnostic, in the near patient setting and by lay persons.

## Principle of the Test

Seraline® ANA-12 IgG test is a line immunoassay (membrane-based immunoassay).

### Detection of specific antibodies is performed in 3 steps:

#### Step 1

Incubation of 1 : 101 diluted samples and test strips for 45 min at room temperature. After incubation samples are aspirated and unbound components are removed by 3 wash cycles with diluted wash and incubation buffer (WIB).

#### Step 2

Incubation of test strips with HRP-labelled conjugate antibodies for 45 min at room temperature. Removal of unbound conjugate antibodies by aspiration and 3 wash cycles with WIB.

#### Step 3

Incubation of test strips at room temperature for 10 min with substrate. The reaction is stopped by aspiration and 3 wash cycles with deionized water. Removing of the residual liquid by drying the test strips between filter paper. The coloration of the developed strips is stable when stored in the dark.

Fixation of the developed test strips on the evaluation template. When doing so, placement of the functional control of the test strips exactly on the separating line pre-printed in the evaluation template. Identification of the stained antigen bands on the dried test strips with help of the evaluation template. Determination of the test result according to the evaluation criteria and documentation of the identified bands in the evaluation template.

Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and evaluation with software Seraline®scan is possible.

## Test Components (Delivery Scope)

For 20 determinations

1	<b>TESTSTR</b>	<b>Test strips with evaluation template</b> Specific antigens on nitrocellulose membrane (see antigens used)	<b>20 strips</b> color coding: violet in a folding booklet in a pressure seal bag
2	<b>WIB (5x)</b>	<b>Wash and incubation buffer (5x)</b> Seramun® Wash and incubation buffer (5x) Aqueous buffer	<b>70 mL concentrate</b> for 350 mL diluted buffer, colorless, black cap
3	<b>CONJ HRP IgG</b>	<b>Anti-human IgG-HRP-Conjugate</b> anti-human IgG-HRP	<b>35 mL</b> ready-to-use solution, colored red, red cap
4	<b>SUBSTR</b>	<b>Substrate</b> SeramunBlau® prec <0.1 % 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine	<b>35 mL</b> ready-to-use solution, colorless-pale yellow blue cap
5	<b>INCUTRAY</b>	<b>Incubation tray with cover</b>	2 pieces
6	<b>TEMPLATE</b>	<b>Evaluation template</b>	1 piece
7		<b>Certificate of Analysis</b>	1 piece
8		<b>Instructions for Use</b>	1 piece

## Antigens Used

Name	Description	Clinical relevance
<b>dsDNA</b>	Double-stranded DNA	Systemic Lupus Erythematosus (SLE), activity and prognostic marker, ACR/EULAR* classification criterion (2019) Lupus Nephritis (LN) Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus (NPSLE) Sjogren's Syndrome (SS) Scleroderma (SSc)
<b>Nucleosome</b>	Structural component of chromatin	Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Lupus Nephritis (LN) Drug-Induced Lupus Erythematosus (DILE) Mixed Connective Tissue Disease (MCTD)
<b>Sm</b>	Smith antigen/ribonucleoprotein	Systemic Lupus Erythematosus (SLE), diagnostic marker, ACR/EULAR classification criterion (2019) Lupus Nephritis (LN), prognostic marker
<b>P0</b>	Ribosomal phosphoprotein	Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus (NPSLE) Lupus Nephritis (LN)
<b>Histone</b>	Basic element of nucleosomes	Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Drug-Induced Lupus Erythematosus (DILE) Lupus Nephritis (LN)

<b>Name</b>	<b>Description</b>	<b>Clinical relevance</b>
<b>U1-snRNP</b>	Multienzyme complex of three U1-specific proteins	Mixed Connective Tissue Disease (MCTD), diagnostic marker Mixed Connective Tissue Disease (MCTD)/ Myositis-Overlap-Syndrom Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Systemic Lupus Erythematosus (SLE) / Scleroderma (SSc) Sjogren's Syndrome (SS)
<b>Ro/SS-A (60 kDa)</b>	Ribonucleoprotein/ Sjogren's syndrome antigen A	Systemic Lupus Erythematosus (SLE), early diagnostic marker Drug-Induced Lupus Erythematosus (DILE) Neonatal Lupus Erythematosus (NLE) Sjogren's Syndrome (SS), early diagnostic marker, specific, ACR/EULAR classification criterion (2016) Scleroderma (SSc)
<b>Ro/SS-A (52 kDa)</b>	52 kDa Ribonucleoprotein/ Sjogren's syndrome antigen A	Sjogren's Syndrome (SS), early diagnostic marker, ACR/EULAR classification criterion (2016) Systemic Lupus Erythematosus (SLE), early diagnostic marker Neonatal Lupus Erythematosus (NLE) / Congenital Heart Block (CHB) Drug-induced Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus (DI-SCLE) Lupus Nephritis (LN) Myositis Scleroderma (SSc)
<b>La/SS-B</b>	Phosphoprotein/ Sjogren's syndrome antigen B	Sjogren's Syndrome (SS), early diagnostic marker Systemic Lupus Erythematosus (SLE), early diagnostic marker Neonatal Lupus Erythematosus (NLE) / Congenital Heart Block (CHB) Drug-Induced Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus (DI-SCLE) Lupus Nephritis (LN)
<b>Sci-70</b>	DNA Topoisomerase I	Scleroderma (SSc) CREST-Syndrome, ACR/EULAR classification criterion (2013) Scleroderma (SSc) /Myositis-Overlap-Syndrom
<b>CENP-B</b>	Kinetochores/ centromere B	Scleroderma (SSc) CREST-Syndrome, ACR/EULAR classification criterion (2013)
<b>Jo-1</b>	Histidyl-tRNA synthetase	Idiopathic Autoimmune Myositides, diagnostic marker Polymyositis (PM, Anti-Synthetase-Syndrome) Dermatomyositis (DM)

\* ACR American College of Rheumatology, EULAR European League Against Rheumatism

## Additional Materials and Aids Required for the Test Procedure

Single-channel micropipette and pipette tips for 15 µL and 1500 µL • plastic tweezers • graduated cylinders and beakers • test tubes for sample dilution • rocking shaker • filter paper • glue stick • aspiration system with collection vessel for infectious solutions • deionized water • stopwatch

Optional:

Flatbed scanner • evaluation software Seraline® scan • automatic processing device

## Important Information



**This device is for *in vitro* diagnostic use only.** The kit may be performed by trained laboratory personnel only.

Follow the instructions for use carefully.

The shelf life specified must be observed. Do not mix components with reagents from other manufacturers. Do not use reagents from damaged packages or bottles.

**Mixing of test kit components of different lots is only allowed for wash and incubation buffer (5x) and substrate.**

All serious incidents occurring in relation with Seraline® ANA-12 IgG must be reported to the manufacturer and the competent authority of the EU member state in which the user and/or the patient are located.

### Workplace Requirements

A clean and fiber-free workspace is required to perform line immunoassays. Particles or fibers which may adhere to the test strips can lead to erroneous results. The workstation and kit components should not be exposed to direct sunlight.

### Information on Assay Procedure

All reagents should be stored at 2...8 °C. Bring all components to room temperature before use.

Store substrate protected from light!

The order of the pipetting steps and duration of the wash and incubation steps must be observed. Avoid bubble formation during pipetting, this will lead to evaluation errors.

### Safety Instructions

Reagents must not be swallowed. Contact with skin or mucous membranes should be avoided.

Some reagents may contain biocides as preservative.

Handle all components and patient samples as if potentially hazardous and infectious.

Additional information may be taken from the Material Safety Data Sheet.

The product contains the following hazard component/-s.

TESTSTR	-	Contains material of animal and microbiological origin.
WIB (5x)	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May cause allergic reactions.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
		Contains material of animal origin
CONJ HRP		Contains material of animal and microbiological origin.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
SUBSTR	EUH210	Safety data sheet available on request.

### Limitations of the Procedure

Result interpretation should always consider clinical findings. Individual cases may require repeated investigations of samples taken at intervals of several weeks. In an early stage of infection antibodies may not be present yet or below detection limit.

Impurities and cross contamination of reagents or samples by fungi or bacteria can lead to false positive as well as false negative results.

The use of contaminated samples may increase the background color of the test strips and lead to incorrect results.

In rare cases, e.g., hypergammaglobulinemia, circulating immune complexes, or milk antibodies, the test strips may turn blue very quickly. In such cases the color reaction should be stopped early by rinsing the test strips 3 times with deionized water.

## Sample Treatment

### Sample Collection

Collect serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin in suitable sampling container.

### Sample Shelf Life and Storage

Samples can be stored at 2...8 °C for a maximum of 48 hours. For longer periods samples have to be stored at < -15 °C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

It should be noted that diluted antibodies may not be stable, which may lead to a loss of activity. Required follow-up testing at higher dilution therefore should be performed same day.

### Sample Preparation

#### *Serum/Plasma:*

Bring samples to RT before use. In general, homogeneity should be ensured by brief shaking.

Dilute serum and/or plasma samples 1 : 101 (v/v) (15 µL sample and 1500 µL diluted wash and incubation buffer (prepared from WIB (5x)) in the incubation well.

## Reagent Treatment

### Reagent Shelf Life and Storage

The complete test kit with sealed reagent bottles and test strips is stable until the printed expiration date when stored at 2...8 °C. All opened test kit components are stable for up to 2 months when stored properly at 2...8 °C. The diluted wash and incubation buffer can be stored at 2...8 °C for up to 1 month.

### Reagent preparation

Allow all components to reach **room temperature** prior to use. Return unused test strips to the pouch and seal.

Dilute **wash and incubation buffer WIB (5x)** 1 : 5 with deionized water.

Example: 70 mL WIB (5x) + 280 mL deionized water. The prepared wash and incubation buffer must be thoroughly mixed before use. Avoid foam formation!

The **substrate** must be protected from direct light.



## Assay Procedure

Test must be performed at room temperature (18...25 °C). Bring **all** ready-to-use test reagents and the diluted wash buffer to **room temperature**.

Place test strips in incubation wells using plastic tweezers. Imprinted numbers should point upwards.

All incubation steps should be performed on a rocking shaker with a recommended frequency of 20 to 30 rotations per minute.

Follow the pipetting scheme and time schedules of the protocol.

1. Incubate test strip **TESTSTR** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer for **5 min** on the shaker
2. Add **15 µL** of sample.
3. Cover tray with lid **INCUTRAY** and incubate on rocking shaker for **45 min**.
4. Aspirate solutions and wash test strips **3x 5 min** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer.
5. **Add 1.5 mL** conjugate **CONJ HRP IgG**.
6. Cover tray with lid **INCUTRAY** and incubate for **45 min** on rocking shaker.
7. Aspirate solutions and wash test strips **3x 5 min** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer.
8. Incubate test strips with **1.5 mL** **SUBSTR** for **10 min** on rocking shaker.
9. Aspirate substrate and rinse test strip **3x** with **1.5 mL** deionized water to stop color reaction.
10. **Dry** test strips between filter paper, then evaluate.

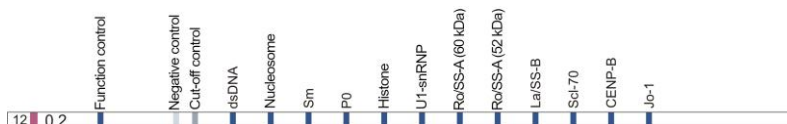
## Evaluation of Results

### Validity criteria for the Test

Each test strip of Seraline® ANA-12 IgG contains three control bands:

1. The function control must be visible.
2. The intensity of the negative control must be lower than that of the cut-off control.
3. The cut-off control must be visible (intensity of the bands is used to discriminate between positive and negative results).

Test may be evaluated if function control and cut-off control are visible.



If the above-mentioned quality criteria are not met, test should be repeated strictly following the test procedure (incubation times and temperatures, sample and wash and incubation buffer dilution, wash steps). In case of repeated failure of the quality criteria contact the manufacturer.

Evaluate dry test strips only. Protect test strips from direct sunlight. Assign protein bands using the enclosed evaluation template.

Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and automatic evaluation with Seraline®scan evaluation software is possible.

## Interpretation of Results

**Bands with an intensity  $\geq$  Cut-off control only are considered positive.**

Evaluation	Evaluation criteria
<b>Positive</b>	Color intensity of bands $\geq$ cut-off control
<b>Negative</b>	Color intensity of bands $<$ cut-off control

## Performance Characteristics

### Interfering substances

All tested substances do not have a significant impact on the test results even if present in elevated concentrations in the serum of 20 mg/dL bilirubin C and F each (simulation of icteric samples); 500 mg/dL hemoglobin (simulation of hemolytic samples); 1000 mg/dL lipids (triglycerides) (simulation of lipemic samples) and 500 IU/mL rheumatoid Factor.

### Diagnostic sensitivity

Pre-characterized sera (n = 71) were analyzed to determine the diagnostic sensitivity of Seraline® ANA-12 IgG.

Clinical findings	Number of samples [n]	Sensitivity [%]
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	42	86.0
Scleroderma (SSc)	20	95.0
Mixed Connective Tissue Disease (MCTD)	2	100
Myositis	7	100

## Diagnostic Specificity

A study population of two independent collectives of n = 120 and n = 46 blood donors was investigated to determine the specificity in Seraline® ANA-12 IgG.

Blood donors	Number of samples [n]	Specificity [%]
Collective 1	120	97.0
Collective 2	46	95.0
<b>Total</b>	<b>166</b>	<b>96.0</b>

## Comperative Sensitivity and Specificity

For the determination of comparative sensitivity and specificity, n = 160 precharacterized samples were tested. Comparative sensitivity and specificity were determined in comparison to a reference test in Seraline® ANA-12 IgG.

Antigen	Sensitivity [%]	Specificity [%]	Agreement [%]
dsDNA	90.9 (30/33)	98.4 (125/127)	96.9 (155/160)
Nucleosome	71.0 (22/31)	99.2 (128/129)	93.8 (150/160)
Sm	96.2 (25/26)	99.3 (133/134)	98.8 (158/160)
P0	85.3 (29/34)	100 (126/126)	96.9 (155/160)
Histone	87.5 (28/32)	96.9 (124/128)	95.0 (152/160)
U1-snRNP	91.4 (32/35)	99.2 (124/125)	97.5 (156/160)
Ro/SS-A (60 kDa)	100 (78/78)	95.1 (78/82)	97.5 (156/160)
Ro/SS-A (52 kDa)	100 (71/71)	100 (89/89)	100 (160/160)
La/SS-B	100 (42/42)	97.5 (115/118)	98.1 (157/160)
Scl-70	100 (22/22)	100 (138/138)	100 (160/160)
CENP-B	100 (21/21)	100 (139/139)	100 (160/160)
Jo-1	61.9 (13/21)	100 (139/139)	95.0 (152/160)

\*\*All discrepantly determined samples were examined in a second, independent comparison test. This confirmed 3 of 5 (dsDNA), 1 of 10 (nucleosomes), 2 of 2 (Sm), 3 of 5 (P0), 2 of 8 (histones), 4 of 4 (U1-snRNP), 3 of 4 (Ro/SS-A (60 kDa)), 2 of 3 (La/SS-B), and 7 of 8 (Jo-1) discrepant samples.

## Application

### Software-based Evaluation

Evaluation is performed visually using the enclosed template. Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and evaluation with Seraline®scan evaluation software is possible.

## Change History

Version	Section	Modifications
2023-01_v01	Entire document	Updating of the intended use Conversion of subsections Insertion of safety instructions

## References

1. Conrad K, Schößler W, Hiepe F et al.. Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases. Pabst Science Publishers, 2nd Edition, 2007
2. Cozzani E, Drosera M, Gasparini G et al. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Dis* 2014; 321359. <https://doi.org/10.1155/2014/321359>
3. Fritzler MJ, McCarty GA, Ryan JP et al. Clinical Features of Patients with Antibodies Directed against Proliferating Cell Nuclear Antigen. *Arthritis Rheumatol* 1983; 26(2): 140-145
4. Kommission Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*. AWMF-Registernummer: 030/085. Deutsche Gesellschaft für Neurologie 2018
5. Satoh M, Tanaka S, Ceribelli A et al. A Comprehensive Overview on Myositis-Specific Antibodies: New and Old Biomarkers in Idiopathic Inflammatory Myopathy. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017; 52(1):1-19. <https://doi.org/10.1007/s12016-015-8510-y>
6. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E et al. Anti-nucleosome Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus of Recent Onset. Potential Utility as a Diagnostic Tool and Disease Activity Marker. *Rheumatology* 2004; 43: 220–224. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keh024>
7. Sui M, Lin Q, Xu Z et al. Simultaneous Positivity for Anti-DNA, Anti-Nucleosome and Anti-Histone Antibodies is a Marker for More Severe Lupus Nephritis. *J Clin Immunol* 2013; 33: 378-387. <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9825-6>
8. Tan S, Ayutyanont N, Bhattarai B, et al. Clinical Characteristics of Antimitochondrial Antibody-Positive Patients at a Safety Net Health Care System in Arizona. *BMJ Open Gastroenterol* 2017; 4:e000158. <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2017-000158>
9. Theander E, Jonsson R, Sjöström B, et al. Prediction of Sjögren's Syndrome Years Before Diagnosis and Identification of Patients With Early Onset and Severe Disease Course by Autoantibody Profiling. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67(9): 2427–2436. <https://doi.org/10.1002/art.39214>
10. Vedove CD, Simon JC, Girolomoni G. Medikamenteninduzierter Lupus erythematodes unter besonderer Berücksichtigung von Hautmanifestationen und Anti-TNFα-Therapeutika. *J Dtsch Dermatol Ges* 2012; 12(10): 889-897. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2012.08000.x>
11. Yaneva M, Arnett FC. Antibodies against Ku Protein in Sera from Patients with Autoimmune Diseases. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 366-372
12. Yang J, Xu Z, Sui M, et al. Co-Positivity for Anti-dsDNA, -Nucleosome and -Histone Antibodies in Lupus Nephritis Is Indicative of High Serum Levels and Severe Nephropathy. *PLoS One* 2015; 10(10): e0140441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140441>
13. Zivkovic V, Stankovic A, Cvetkovic T et al. Anti-dsDNA, Anti-Nucleosome and Anti-C1q Antibodies as Disease Activity Markers in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Srp Arh Celok Lek (Serbian Archives of Medicine)* 2014; 142(7-8): 431-436. <https://doi.org/10.2298/SARH1408431Z>