


















# Serazym<sup>®</sup> ANA screen

Enzymimmunoassay zum qualitativen oder semiquantitativen Nachweis von antinukleären Antikörpern (ANA) des IgG-Isotyps gegen nukleäre Antigene und Jo-1 in Serum oder Plasma humanen Ursprungs

**REF** E-065  96  
**IVD** In-vitro-Diagnostikum **CE**

 **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)

 <b>UDI</b> Eindeutige Produktidentifizierung	 <b>IVD</b> In-vitro Diagnostikum	 Hersteller
 Land der Herstellung und Datum der Herstellung	 Nicht wiederverwenden	 <b>SN</b> Seriennummer
 Begrenzung der Luftfeuchtigkeit	 Vor Sonnenlicht schützen	 <b>REF</b> Artikelnummer
 Gebrauchsanweisung beachten	 Verwendbar bis	 <b>LOT</b> Chargennummer
 Ausreichend für <i>n</i> Prüfungen	 Biologisches Risiko	 Temperaturbereich
		 Achtung

## Zweckbestimmung

Serazym® ANA screen ist ein IVD-Test zur qualitativen oder semiquantitativen Bestimmung von antinukleären Antikörpern (ANA) des IgG-Isotyps gegen nukleäre Antigene (dsDNA, RNP, Sm, Ro/SS-A (60kDa), La/SS-B, Scl-70, CENP-B) und Jo-1 in Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Er dient der Diagnosehilfe von Kollagenosen in Proben von Patienten mit Verdacht auf das Vorliegen einer systemischen Autoimmunerkrankung.

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

## Testprinzip

Serazym® ANA screen ist ein Enzymimmunoassay, bei dem die verdünnten Serum- oder Plasmaproben, der gebrauchsfertige Kalibrator sowie die Negativkontrolle mit den an der festen Phase adsorbierten Antigenen reagieren. Nach einer 60-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur (RT, 18...25 °C) werden die ungebundenen Komponenten in einem Waschschritt entfernt. Im zweiten Inkubationsschritt binden die Peroxidase (HRP)-markierten anti-human-IgG-Antikörper an die Probenantikörper. Nach einer 30-minütigen Inkubation bei RT wird ungebundenes Konjugat in einem Waschschritt entfernt. Die HRP setzt im Folgenden 15-minütigen enzymatischen Reaktionsschritt die farblose Substratlösung in ein blaues Reaktionsprodukt um. Diese Reaktion wird nach Inkubation durch Zugabe der Stopplösung beendet, wodurch ein Farbumschlag der blauen Lösung zu gelb auftritt. Die bei 450 nm Mess- und  $\geq 620$  nm Referenzfilter gemessene optische Dichte (OD) des Endprodukts ist zur Konzentration der spezifisch gebundenen Antikörper direkt proportional.

Mit dem ermittelten OD-Wert des Kalibrators wird durch Multiplikation mit dem entsprechenden Faktor der Cut-off-Wert berechnet. Der Bindungsindex wird durch Division der Extinktion der Patientenprobe durch den vorher ermittelten Cut-off-Wert berechnet.

## Testkomponenten (Lieferumfang)

		<b>Für 96 Kavitäten</b>	
1	<b>WELLS</b>	<b>Mikrotiterplatte</b> beschichtet mit nukleären Antigenen (ANA) und Jo-1	12 teilbare Streifen zu je 8 Kavitäten, farblos, vakuumversiegelt mit Trockenbeutel
2	<b>WASHBUF (10x)</b>	<b>Waschpuffer (10x)</b> Seramun® Wash buffer K TRIS-basierter Puffer	100 mL Konzentrat für 1000 mL Lösung, farblos, weiße Kappe
3	<b>DIL</b>	<b>Probenpuffer</b> Seramun® Sample diluent M TRIS-basierter Puffer	100 mL, gebrauchsfertig, rot gefärbt, schwarze Kappe
4	<b>CAL</b>	<b>Kalibrator</b> Faktor siehe Analysezertifikat	1,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt, rote Kappe
5	<b>CONTROL -</b>	<b>Negativkontrolle</b> Konzentration siehe Analysezertifikat	1,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt, grüne Kappe
6	<b>CONJ HRP</b>	<b>HRP-Konjugat</b> HRP-markierte anti-human-IgG-Antikörper (Schaf)	15 mL, gebrauchsfertig, rot gefärbt, rote Kappe
7	<b>SUBSTR</b>	<b>Substrat</b> SeramunBlau® slow2 70 < 0,1 % 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin	15 mL, gebrauchsfertig, farblos, blaue Kappe

8	<b>STOP</b>	<b>Stopplösung</b> SeramunBlau® stop 0,25 M Schwefelsäure	15 mL, gebrauchsfertig, farblos, gelbe Kappe
9	<b>COVER</b>	<b>Abdeckfolie</b>	2 Stück
10		<b>Analysenzertifikat</b>	1 Stück
11		<b>Gebrauchsanleitung</b>	1 Stück

## Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Verstellbare Einkanal-Mikropipette • 8-Kanalpipette bzw. Multipipetten mit Pipettenspitzen • Reagenzienbehälter für Mehrkanal-Mikropipetten • 8-Kanal-Handwaschkamm mit Vakuumpumpe und Abfallbehältern oder Mikrotiterplatten-Waschgerät • 8-Kanal-Handwaschkamm mit Vakuumpumpe und Abfallbehältern oder Mikrotiterplatten-Waschgerät • Mikrotiterplatten-Photometer mit 450 nm Mess- und 620 nm Referenzfilter • deionisiertes Wasser • Messzylinder • Teströhrchen für die Probenverdünnung

## Wichtige Hinweise



**Dieses Testbesteck ist nur zum *in-vitro* diagnostischen Gebrauch bestimmt** und darf nur von geschultem Laborfachpersonal durchgeführt werden.

Die Gebrauchsanleitung ist strikt einzuhalten. Das Testbesteck und seine geöffneten Reagenzien sind nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen zu verwenden. Komponenten aus beschädigten Verpackungen bzw. 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 Waschpuffer (10x), Substrat und Stopplösung erlaubt.**

Alle im Zusammenhang mit Serazym® ANA screen auftretenden schwerwiegenden Vorkommnisse sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem Anwender und/oder Patient niedergelassen sind, zu melden.

### Hinweise zur Testdurchführung

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

Bei größeren Probenreihen empfiehlt sich das Pipettieren der Reagenzien aus Flüssigkeitsreservoirs mittels Mehrkanalpipette, um Zeitverzögerungen zu vermeiden.

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

Die Durchführung der Absaug- und Waschschrte kann manuell oder mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-Washers oder einer Wasserstrahlpumpe erfolgen.

Beim Waschvorgang dispensierten, verdünnten Waschpuffer mindestens 5 s einwirken lassen und Waschpufferreste durch gründliches Absaugen oder Ausschlagen der Kavitäten entfernen!

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren! Sollte das Substrat dunkel gefärbt sein oder Partikel aufweisen, darf dieses nicht mehr verwendet werden.

### 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 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:

WELLS	-	Enthält Material tierischen Ursprungs.
WASHBUF (10x)	EUH208 EUH210	Enthält Gemisch 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.
DIL	-	Enthält Material tierischen Ursprungs.
CAL	EUH208 EUH210	Enthält Gemisch 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.
CONTROL -	EUH208 EUH210	Enthält Gemisch 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.
CONJ HRP	Gefahrbestimmende Komponenten H360D P202  P280  P308+P313  P501  EUH208	N-Methyl-2-pyrrolidon; 1-Methyl-2-pyrrolidon  Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Inhalt/Behälter gemäß den geltenden lokalen Vorschriften der Entsorgung zuführen. Enthält Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.  Nur für gewerbliche Anwender.  Enthält Material tierischen Ursprungs.
SUBSTR	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich
STOP	Gefahrbestimmende Komponenten H290	Schwefelsäure 2,5 %  Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

### Grenzen der Methode

Verunreinigungen der Reagenzien, aber auch der Proben durch Bakterien oder Pilze sowie Kreuzkontaminationen der Testbesteckreagenzien und Proben können zu inkorrekten Ergebnissen führen. Inkorrekte Waschen zur Abtrennung ungebundener Bestandteile aus Probe und Testreagenzien sowie inkorrekte Zeiten bei der Inkubation der Proben, der Negativkontrolle und des Kalibrators können ebenfalls zu falschen Ergebnissen führen.

Die Gesamtinterpretation des ELISA-Testergebnisses sollte im Zusammenhang mit dem klinischen Bild erfolgen.

## Behandlung der Proben

### Probennahme

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

### Probenthaltbarkeit und -lagerung

Serum- oder Plasmaproben humanen Ursprungs bis zu 2 Tage bei 2...8 °C lagern. Bei längerer Aufbewahrung sind die Proben bei -20 °C zu lagern. Mehrfaches (> 3x) Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

### Probenvorbereitung

Vor der Verwendung die Proben auf Raumtemperatur erwärmen und durch kurzes Aufschütteln die Homogenität sichern.

Patientenproben mit Probenpuffer 1 : 101 (v/v) in einem Teströhrchen (zusätzlich benötigtes Hilfsmittel) verdünnen.

Beispiel: 10 µL Probe + 1000 µL Probenpuffer.

## Behandlung der Reagenzien

### Reagenzienhaltbarkeit und -lagerung

Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzflaschen und Mikrotitrationsstreifen ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8 °C bis zu 2 Monate haltbar. Der verdünnte Waschpuffer ist bei 2...8 °C bis zu 1 Monat haltbar.

### Reagenzienvorbereitung

Die Mikrotiterplatte mit teilbaren Streifen ist in einem aluminiumbeschichteten Beutel zusammen mit Trockenmittel vakuumversiegelt. Öffnen der Verpackung erst nach Erreichen der Raumtemperatur. Nicht gebrauchte Kavitäten vor Feuchtigkeit schützen und zusammen mit dem Trockenmittel in den Beutel zurücklegen und verschließen.

Waschpuffer (10x) 1 : 10 mit deionisiertem Wasser verdünnen.

Beispiel: 10 mL Waschpuffer (10x) + 90 mL deionisiertes Wasser.

Außer dem Waschpuffer sind alle enthaltenen Komponenten gebrauchsfertig.

## Testdurchführung

1. Testreagenzien und benötigte Anzahl an Kavitäten auf Raumtemperatur (RT) erwärmen und alle Reagenzien vor Gebrauch leicht schütteln, Schaumbildung vermeiden.
2. Je 100 µL  Kalibrator  
100 µL  Negativkontrolle  
100 µL verdünnte Probe pipettieren.
3. Platte abdecken und 60 min bei RT inkubieren.
4. Dekantieren und 3-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
5. 100 µL  HRP-Konjugat pro Kavität.
6. Platte abdecken und 30 min bei RT inkubieren.
7. Dekantieren und 3-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
8. 100 µL  Substrat pro Kavität.
9. 15 min **lichtgeschützt** bei RT inkubieren.
10. 100 µL  Stopplösung pro Kavität, kurz schütteln.
11. Messen der OD bei 450 nm Mess- und  $\geq 620$  nm Referenzfilter mit einem Mikrotiterplatten-Photometer innerhalb von 30 min.

## Auswertung der Ergebnisse

Die Auswertung der Resultate erfolgt qualitativ über die Berechnung eines Cut-off-Wertes oder semi-quantitativ durch die Ermittlung eines Bindungsindex (BI) für jede Probe auf Basis des Cut-off-Wertes unter Verwendung der folgenden Formel:

$$OD_{Cut-off} = OD_{Kalibrator} \times Faktor$$

Der Faktor ist chargenspezifisch und auf dem Analysenzertifikat aufgeführt.

Für die Berechnung des Bindungsindex (Ratio) wird die folgende Formel aufgeführt:

$$BI = \frac{OD_{Probe}}{OD_{Cut-off}}$$

## Interpretation der Ergebnisse

Serazym® ANA screen	Bindungsindex (BI)
Positiv	$\geq 1,0$
Negativ	$< 1,0$

### Testvalidierung

Der Test kann ausgewertet werden, wenn

- Extinktionsmittelwert von Kalibrator CAL  $\geq 0,80$
- Extinktionsmittelwert der Negativkontrolle  $\leq 0,35$

Sind die genannten 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.

## Leistungsmerkmale

Aus Mangel an internationalen Referenzpräparationen erfolgt die Testauswertung mittels Bindungsindex (BI).

### Präzision

Zur Bestimmung der Präzision wurden 4 Proben mehrfach bestimmt: Für die Bestimmung des Intra-Assay-Variationskoeffizienten (VK) wurden die Proben in einer 6-fachen Bestimmung in einem Testlauf vermessen. Die Bestimmung des Inter-Assay-Variationskoeffizienten erfolgte durch eine Doppelbestimmung der Proben in 16 verschiedenen Testläufen:

Probe	Intra-Assay-Variationskoeffizient		Inter-Assay-Variationskoeffizient	
	BI	VK [%]	BI	VK [%]
1	4,87	3,26	4,49	5,21
2	3,76	2,01	3,66	4,07
3	2,00	1,80	2,22	3,48
4	1,31	2,71	1,74	5,16



## Änderungshistorie


<b>Version</b>	<b>Abschnitt</b>	<b>Änderungen</b>
2023-03_v01_de_en	Gesamtes Dokument	Aktualisierung der Zweckbestimmung Umstellung der Teilabschnitte Einfügen von Sicherheitshinweisen Aktualisierung Wichtige Hinweise














# Serazym<sup>®</sup> ANA screen

Enzyme immunoassay for the qualitative or semiquantitative detection of antinuclear antibodies (ANA) of the IgG isotype against nuclear antigens and Jo-1 in serum or plasma of human origin

<b>REF</b>	E-065		96
<b>IVD</b>	In-vitro-diagnostic medical device		

 **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

Serazym® ANA screen is an IVD test for the qualitative or semiquantitative determination of antinuclear antibodies (ANA) of the IgG isotype against nuclear antigens (dsDNA, RNP, Sm, Ro/SS-A (60kDa), La/SS-B, Scl-70, CENP-B) and Jo-1 in serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin by a laboratory professional user.

It is intended to aid in the diagnosis of a collagenosis in specimen materials from patients with suspicion of a systemic autoimmune disease.

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

## Principle of the Test

Serazym® ANA screen is an enzyme immunoassay in which the diluted serum or plasma samples, the ready-to-use calibrator and the negative control react with antigens adsorbed to the solid phase. After a 60-minute incubation at room temperature (RT, 18...25 °C) unbound components are removed by a wash step. In the second incubation step horseradish peroxidase (HRP)- labeled anti-human IgG antibodies bind to the sample antibodies. After a 30-minute incubation at RT unbound conjugate is removed by a wash step. HRP converts the colorless substrate solution to a blue reaction product in the following 15-minute enzymatic reaction step. The reaction is stopped by addition of the stop solution, resulting in a color change from blue to yellow. The optical density (OD) of the reaction product measured at 450 nm measuring and  $\geq 620$  nm reference filter is directly proportional to the concentration of specifically bound antibodies. The cut-off value is calculated by multiplying the measured absorbances of the calibrator by the corresponding factor. The binding index (BI) is calculated by dividing the measured absorbance of the patient sample by the calculated cut-off value.

## Test Components (Delivery Scope)

			<b>For 96 wells</b>
1	<b>WELLS</b>	<b>Microtiter plate</b> coated with nuclear antigens (ANA) and Jo-1	12 single breakable 8-well strips, colorless, vacuum-sealed with desiccant
2	<b>WASHBUF (10x)</b>	<b>Wash buffer (10x)</b> Seramun® Wash buffer K TRIS based buffer	100 mL concentrate for 1000 mL solution, colorless, white cap
3	<b>DIL</b>	<b>Sample diluent</b> Seramun® Sample diluent M TRIS based buffer	100 mL, ready to use, colored red, black cap
4	<b>CAL</b>	<b>Calibrator</b> Factor see Certificate of Analysis	1.0 mL per calibrator ready to use, colored blue, red cap
5	<b>CONTROL -</b>	<b>Positive control</b> Concentration see Certificate of Analysis	1.0 mL, ready to use, colored blue, green cap
6	<b>CONJ HRP</b>	<b>HRP conjugate</b> HRP labeled anti-human IgG antibody (sheep)	15 mL, ready to use, colored red, red cap
7	<b>SUBSTR</b>	<b>Substrate</b> SeramunBlau® slow2 70 < 0.1 % 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine	15 mL, ready to use, colorless, blue cap
8	<b>STOP</b>	<b>Stop solution</b> SeramunBlau® stop 0.25 M sulphuric acid	15 mL, ready to use, colorless, yellow cap

9	COVER	Covering film	2 pieces
10		Certificate of Analysis	1 piece
11		Instructions for Use	1 piece

## Additional Materials and Aids Required for the Test Procedure

Adjustable single-channel micropipette • 8-channel pipette or multi-pipette with pipette tips • reagent container for multi-channel micro-pipettes • 8-channel wash comb with vacuum pump and waste bottle or microplate washer • microplate reader with 450 nm measuring filter and  $\geq 620$  nm reference filter • deionized water • measuring cylinder • tubes for sample preparation

## Important Information



**This device is for *in-vitro* diagnostic use only.** Follow the instructions carefully. The kit may be performed by laboratory professionals only.

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

**Mixing of test kit components of different lots is only allowed for wash buffer (10x), substrate and stop solution.**

All serious incidents occurring in relation with Serazym<sup>®</sup> ANA screen must be reported to the manufacturer and the competent authority of the EU member state in which user and/or patient are located.

### Information on Assay Procedure

All reagents should be stored at 2...8 °C. Bring all test components to room temperature before use. For larger sample series, pipetting reagents from liquid reservoirs using a multichannel pipette is recommended to avoid time delays. Follow the pipetting scheme and time schedules of the protocol. The aspiration and washing steps can be performed manually or with the help of a microplate washer or waterjet pump. Wash solution should be allowed a minimum reaction time of 5s in the wells per wash cycle. Remove wash buffer residues by thoroughly aspirating or tapping out the cavities! Protect substrate from light! The test should not be performed with a substrate solution that is colored dark or contains colored precipitates.

### 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.

Product contains the following hazardous component/-s:

WELLS	-	Contains material of animal origin.
WASHBUF (10x)	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May produce an allergic reaction.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
DIL	-	Contains material of animal origin.
CAL	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May produce an allergic reaction.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
CONTROL -	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May produce an allergic reaction.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
CONJ HRP	Hazard components H360D P202	N-methyl-2-pyrrolidone; 1-methyl-2-pyrrolidone  May damage the unborn child. Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
	P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
	P308+P313 P501	If exposed or concerned: Get medical advice/attention. Dispose of contents/container in accordance with local regulations.
	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May produce an allergic reaction.
		Restricted to professional users. Contains material of animal origin.
SUBSTR	EUH210	Safety data sheet available on request
STOP	Hazard components H290	Sulphuric acid 2.5 %  May be corrosive to metals.

### Limitations of the Procedure

Contamination of reagents and samples by bacteria or fungi as well as cross-contamination of the test kit reagents and samples can lead to incorrect results. Incorrect washing to separate unbound components from the sample and test reagents as well as incorrect incubation times of samples, negative control and calibrator can cause incorrect results as well.

The overall interpretation of an ELISA test result should consider all clinical findings.

## 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 2 days. For longer periods samples have to be stored at -20 °C. Repeated (> 3x) freezing and thawing of samples should be avoided.

### Sample Preparation

Bring samples to room temperature before use. Homogeneity should be ensured by shaking components briefly. Samples have to be diluted 1 : 101 (v/v) with sample diluent.

Example: 10 µL sample and 1000 µL sample diluent.

## Reagent Treatment

### Reagent Shelf Life and Storage

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

### Reagent Preparation

The microtiter plate with breakable 8-well strips is vacuum sealed with desiccant. Allow the sealed plate to reach room temperature before opening. Unused wells should be stored at 2...8 °C and protected from moisture in the original cover carefully resealed.

Dilute wash buffer (10x) 1 : 10 with deionized water.

Example: 10 mL wash buffer (10x) + 90 mL deionized water.

Except for the wash buffer all components included in the test kit are ready to use.

The substrate must be protected from direct light. The test should not be performed with a substrate solution that is colored dark or contains colored precipitates.

## Assay Procedure

1. Allow test reagents and required number of wells to reach room temperature (RT). Shake reagents gently before use. Avoid foaming.
2. Pipette 100 µL **CAL** Calibrator  
100 µL **CONTROL -** Negative control  
100 µL diluted sample each.
3. Cover the plate and incubate for 60 min at RT
4. Decant, then wash each cavity 3 x with 300 µL diluted wash buffer. Tap dry onto absorbent paper if necessary.
5. 100 µL **CONJ HRP** HRP conjugate per cavity.
6. Cover the plate and incubate for 30 min at RT.
7. Decant, then wash each cavity 3 x with 300 µL diluted wash buffer. Tap dry onto absorbent paper if necessary.
8. 100 µL **SUBSTR** substrate per cavity.
9. Incubate for 15 min at RT **protected from light**.
10. 100 µL **STOP** stop solution per cavity, mix gently.
11. Read OD at 450 nm and ≥ 620 nm with a microplate reader within 30 min following reaction stop.

## Evaluation of Results

The evaluation of the results is performed qualitatively by calculating a cut-off value or semi-quantitatively by determining a binding index (BI) for each sample based on the cut-off value using the following formula:

$$Absorbance_{cut-off} = absorbance_{calibrator} \times factor$$

The factor is lot-specific and shown on the Certificate of Analysis.

The binding index (ratio) is calculated according to the following formula:

$$BI = \frac{absorbance_{sample}}{absorbance_{cut-off}}$$

## Interpretation of Results

Serazym® ANA screen	Binding index
positive	≥ 1.0
negative	< 1.0

### Test validation

The test run is valid if

- absorbance of calibrator CAL is ≥ 0.80
- absorbance of negative control is ≤ 0.35

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

## Performance Characteristics

For lack of international reference preparations results are interpreted by means of the binding index (BI).

### Precision

To determine precision 4 samples were measured multiple times. For the determination of the intra-assay coefficient of variation (CV) samples were measured in a 6-fold determination in one test run. The determination of the inter-assay coefficient of variation was done by a 2-fold determination in 16 different test runs:

Sample	Intra-assay coefficient of variation		Inter-assay coefficient of variation	
	BI	CV [%]	BI	CV [%]
1	4.87	3.26	4.49	5.21
2	3.76	2.01	3.66	4.07
3	2.00	1.80	2.22	3.48
4	1.31	2.71	1.74	5.16

## Change History

<b>Version</b>	<b>Section</b>	<b>Modifications</b>
2023-03_v01_de_en	Entire document	Updating of the Intended Use Conversion of subsections Insertion of Safety Instructions Updating Important Information

## References

1. Conrad, K, Schößler, W et al. (2015): "Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: A diagnostic reference", Pabst Science Publishers, Vol. 3, Lengerich, Germany.
2. Peter, JB, Shoenfeld Y (1996): "Autoantibodies". Elsevier, Vol. 1, Amsterdam, The Netherlands.
3. Tan, EM (1989): "Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune disease and probes for cell biology", Adv. Immunol., Vol. 44, p. 93-151.