




## SeraSpot<sup>®</sup> ANA-17 IgG

Spotimmunoassay zum quantitativen Nachweis von IgG-Autoantikörpern gegen 17 antinukleäre und zytoplasmatische Antigene in Serum humanen Ursprungs

|            |                       |   |           |
|------------|-----------------------|---|-----------|
| <b>REF</b> | SP-002-17 G-S6        |  | 48        |
| <b>REF</b> | SP-002-17 G-S12       |  | 96        |
| <b>REF</b> | SP-002-17 G-S24       |  | 2 x 96    |
| <b>IVD</b> | In-vitro-Diagnostikum |   | <b>CE</b> |




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)

**UDI** Eindeutige Produktidentifizierung


**IVD** In-vitro Diagnostikum

 Hersteller

 Land der Herstellung und Datum der Herstellung


 Nicht wiederverwenden

**SN** Seriennummer

 Begrenzung der Luftfeuchtigkeit


 Vor Sonnenlicht schützen


**REF** Artikelnummer

 Gebrauchsanweisung beachten


 Verwendbar bis

**LOT** Chargennummer

 Ausreichend für *n* Prüfungen

 Biologisches Risiko

 Temperaturbereich

 Achtung

## Zweckbestimmung

SeraSpot® ANA-17 IgG ist ein IVD-Test zur quantitativen Bestimmung von antinukleären und zytoplasmatischen Autoantikörpern des IgG-Isotyps gegen die Antigene Mi-2, Ku, U1-snRNP, CENP-B, Nukleosomen, Histone, dsDNA, Jo-1, Scl-70, Sm, P0, PCNA, La/SS-B, Ro/SS-A (52 kDa), Ro/SS-A (60 kDa), AMA-M2 und PM-Scl in Serum humanen Ursprungs durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Der Test wird angewendet in Kombination mit dem Gerät Seramun SpotSight® plate mono / Seramun SpotSight® strip zur Bildaufnahme und der Software Seramun SpotSight® scan zur Bildanalyse.

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

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

## Testprinzip

SeraSpot® ANA-17 IgG ist ein Festphasenimmunoassay (Spotimmunoassay) basierend auf der Verwendung rekombinanter oder nativer, gereinigter Antigene, die in Arrayanordnung (Spotarray) auf den Boden der Kavitäten von 96-well Mikrotiterplatten fixiert sind, und die als Fängermoleküle für Autoantikörper gegen Mi-2, Ku, U1-snRNP, CENP-B, Nukleosomen, Histone, dsDNA, Jo-1, Scl-70, Sm, P0, PCNA, La/SS-B, Ro/SS-A (52 kDa), Ro/SS-A (60 kDa), AMA-M2, und PM-Scl dienen. Nach Inkubation werden ungebundene Komponenten durch Waschstschritte entfernt und spezifisch gebundene Antikörper mittels Peroxidase (HRP)-markierten anti-human IgG-Antikörpern und einer nachgeschalteten Substratreaktion mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) und Wasserstoffperoxid und nachgewiesen. An den Stellen, an welchen sich Immunkomplexe ausbilden, entwickeln sich blaue Spots durch Präzipitation des Substrats. Die schwach- bis dunkelblauen Spots sind ohne Hilfsmittel sichtbar.

### Der Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt in 3 Schritten:

#### Schritt 1

Inkubation der zu untersuchenden Proben bei Raumtemperatur für 30 Minuten in einer Verdünnung von 1 : 101 in den ausgewählten Kavitäten. Entfernung der nicht gebundenen Probenbestandteile durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Kavitäten mit verdünntem Waschpuffer.

#### Schritt 2

Inkubation der Kavitäten bei Raumtemperatur für 30 Minuten mit HRP-markierten Konjugatantikörpern gegen humane Antikörper vom IgG-Isotyp. Entfernung der nicht gebundenen Konjugatantikörper durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Kavitäten mit verdünntem Waschpuffer.

#### Schritt 3

Inkubation der Kavitäten bei Raumtemperatur für 30 Minuten mit Substrat SeramunBlau® spot dark. Stoppen der Reaktion durch Absaugen der Substratlösung. Entfernen von Restflüssigkeit durch Ausschlagen auf fusselfreiem Tuch. Die Färbung der entwickelten Arrays ist bei dunkler Lagerung stabil.

## Testkomponenten (Lieferumfang)

|   |                      | Für 48 Bestimmungen  | Für 96 Bestimmungen   | Für 2 x 96 Bestimmungen  |  |
|---|----------------------|--|---|--|--|
| 1 | <b>WELLS</b>         | <b>Mikrotiterplatte (Kavitäten mit Arrays)</b><br>spezifische Antigene und Kontrollen als Spots in Arrayformat immobilisiert | 6 teilbare 8er-Streifen im Rahmen<br>Farbmarkierung dunkelviolett<br>vakuumversiegelt mit Trockenbeutel | 12 teilbare 8er-Streifen im Rahmen<br>Farbmarkierung dunkelviolett<br>vakuumversiegelt mit Trockenbeutel | 2 x 12 teilbare 8er-Streifen im Rahmen<br>Farbmarkierung dunkelviolett<br>vakuumversiegelt mit Trockenbeutel |
| 2 | <b>WASHBUF (10x)</b> | <b>Waschpuffer (10x)</b><br>Seramun® Wash buffer A<br>TRIS-basierter Puffer  | 100 mL <b>Konzentrat</b><br>für 1000 mL Lösung<br>farblos<br>weiße Kappe                                | 100 mL <b>Konzentrat</b><br>für 1000 mL Lösung<br>farblos<br>weiße Kappe                                 | 2 x 100 mL <b>Konzentrat</b><br>für je 1000 mL Lösung<br>farblos<br>weiße Kappe                              |
| 3 | <b>DIL</b>           | <b>Probenpuffer</b><br>Seramun® Sample diluent B   | 55 mL<br>gebrauchsfertig<br>rot gefärbt<br>schwarze Kappe   | 2 x 55 mL<br>gebrauchsfertig<br>rot gefärbt<br>schwarze Kappe  | 4 x 55 mL<br>gebrauchsfertig<br>rot gefärbt<br>schwarze Kappe  |
| 4 | <b>CONJ HRP IgG</b>  | <b>Konjugat</b><br>anti-Human IgG-HRP Konjugat (Schaf)   | 8,0 mL<br>gebrauchsfertig<br>rot gefärbt<br>rote Kappe  | 8,0 mL<br>gebrauchsfertig<br>rot gefärbt<br>rote Kappe   | 2 x 8,0 mL<br>gebrauchsfertig<br>rot gefärbt<br>rote Kappe   |
| 5 | <b>SUBSTR</b>        | <b>Substrat</b><br>SeramunBlau® spot dark 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin  | 8,0 mL<br>gebrauchsfertig<br>farblos<br>blaue Kappe   | 8,0 mL<br>gebrauchsfertig<br>farblos<br>blaue Kappe  | 2 x 8,0 mL<br>gebrauchsfertig<br>farblos<br>blaue Kappe  |
| 6 | <b>COVER</b>         | <b>Abdeckfolie</b>   | 2 Stück   | 2 Stück  | 4 Stück  |
| 7 | <b>SWAB</b>          | <b>Tupfer</b><br>70 % (v/v)<br>Isopropylalkohol  | 3 x 2 Stück   | 6 x 2 Stück  | 12 x 2 Stück   |
| 8 |                      | <b>Analysenzertifikat</b>  | 1 Stück   | 1 Stück  | 1 Stück  |
| 9 |                      | <b>Gebrauchsanleitung</b>  | 1 Stück   | 1 Stück  | 1 Stück  |

## Verwendete Antigene

| Bezeichnung | Beschreibung   | Klinische Relevanz  |
|-------------|--|---|
| Mi-2        | Nukleäres Protein  | Dermatomyositis (DM),<br>Diagnostischer Marker<br>Sklerodermie (SSc) CREST-Syndrom  |
| Ku          | Heterodimere Untereinheit der DNA-abhängigen Kinase        | Sklerodermie (SSc)<br>Polymyositis (PM)/ Sklerodermie (SSc)-Overlap-Syndrom<br>Systemischer Lupus Erythematodes (SLE)<br>Dermatomyositis (DM)<br>Gemischte Bindegewebekrankheit (MCTD)<br>Myositis<br>Sjögren-Syndrom (SS)  |
| U1-snRNP    | Mix aus drei U1-spezifischen RNP-Proteinen A, C und 68 kDa | Gemischte Bindegewebekrankheit (MCTD),<br>Diagnostischer Marker<br>Gemischte Bindegewebekrankheit (MCTD)/ Myositis-Overlap-Syndrom<br>Systemischer Lupus Erythematodes (SLE)<br>Systemischer Lupus Erythematodes (SLE)/<br>Sklerodermie (SSc)<br>Sjögren-Syndrom (SS) |

|             |   |  |
|-------------|---|--|
| CENP-B      | Protein des Kinetochores/<br>Zentromer B Antigen          | Sklerodermie (SSc) CREST-Syndrom, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2013)   |
| Nukleosomen | Strukturkomponente des Chromatins                         | Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)<br>Lupus Nephritis (LN)<br>Medikamenten-Induzierter Lupus Erythematoses (DILE)<br>Gemischte Bindegewebekrankheit (MCTD)   |
| Histone     | Grundbaustein der Nukleosomen                             | Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)<br>Medikamenten-Induzierter Lupus Erythematoses (DILE)<br>Lupus Nephritis (LN)  |
| dsDNA       | Doppelsträngige DNA                                       | Systemischer Lupus Erythematoses (SLE),<br>Aktivitäts- und Prognosemarker, ACR/EULAR*<br>Klassifizierungskriterium (2019)<br>Lupus Nephritis (LN)<br>Neuropsychiatrischer Systemischer Lupus Erythematoses (NPSLE)<br>Sjögren-Syndrom (SS)<br>Sklerodermie (SSc)                                 |
| Jo-1        | Histidyl-tRNA Synthetase                                  | Idiopathische Autoimmune Myositiden,<br>Diagnostischer Marker<br>Polymyositis (PM) Anti-Synthetase-Syndrom<br>Dermatomyositis (DM)   |
| Scl-70      | DNA Topoisomerase I                                       | Sklerodermie (SSc) CREST-Syndrom, ACR/EULAR Klassifizierungskriterium (2013)<br>Sklerodermie (SSc)/ Myositis-Overlap-Syndrom   |
| Sm          | Smith Antigen/<br>Ribonukleoprotein                       | Systemischer Lupus Erythematoses (SLE),<br>Diagnostischer Marker, ACR/EULAR<br>Klassifizierungskriterium (2019)<br>Lupus Nephritis (LN), Prognosemarker  |
| P0          | Ribosomales Phosphoprotein                                | Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)<br>Neuropsychiatrischer Systemischer Lupus Erythematoses (NPSLE)<br>Lupus Nephritis (LN)  |
| PCNA        | Cyclin (36 kDa),<br>Hilfsprotein der DNA-Polymerase delta | Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)   |
| La/SS-B     | Phosphoprotein/<br>Sjögren-Syndrom Antigen B              | Sjögren-Syndrom (SS),<br>Frühdagnostischer Marker<br>Systemischer Lupus Erythematoses (SLE),<br>Frühdagnostischer Marker<br>Neonataler Lupus Erythematoses (NLE)/ Kongenitaler Herzblock (CHB)<br>Medikamenten-Induzierter Subakut Kutaner Lupus Erythematoses (DI-SCLE)<br>Lupus Nephritis (LN) |

|                  |  |  |
|------------------|--|--|
| Ro/SS-A (52 kDa) | 52 kDa<br>Ribonukleoprotein/<br>Sjögren-Syndrom<br>Antigen A   | Sjögren-Syndrom (SS),<br>Frühdagnostischer Marker, ACR/EULAR<br>Klassifizierungskriterium (2016)<br>Systemischer Lupus Erythematodes (SLE),<br>Frühdagnostischer Marker<br>Neonataler Lupus Erythematodes (NLE) mit<br>Kongenitalem Herzblock (CHB)<br>Medikamenten-Induzierter Subakut Kutaner Lupus<br>Erythematodes (DI-SCLE)<br>Lupus Nephritis (LN)<br>Myositis<br>Sklerodermie (SSc) |
| Ro/SS-A (60 kDa) | 60 kDa<br>Ribonukleoprotein/<br>Sjögren's-Syndrom<br>Antigen A | Systemischer Lupus Erythematodes (SLE),<br>Frühdagnostischer Marker<br>Medikamenten-Induzierter Lupus Erythematodes<br>(DILE)<br>Neonataler Lupus Erythematodes (NLE)<br>Sjögren-Syndrom (SS),<br>Frühdagnostischer Marker, ACR/EULAR<br>Klassifizierungskriterium (2016)<br>Sklerodermie (SSc)  |
| AMA-M2           | Mitochondrienantigen<br>Subtyp M2                              | Primäre Biliäre Cholangitis (PBC), diagnostischer<br>Marker  |
| PM-Scl           | Intrazellulärer<br>Proteinkomplex                              | Polymyositis (PM)/ Sklerodermie (SSc)-Overlap-<br>Syndrom<br>Poly-/ Dermatomyositis (DM)   |

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

### Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Verstellbare Einkanal-Mikropipette • verstellbare 8-Kanalpipette bzw. Multipipetten • Reagenzienbehälter für Mehrkanal-Mikropipetten • Messzylinder • Teströhrchen für die Probenverdünnung • Teströhrchenständer • Mikrotiterplatten-Waschgerät • Laborsystem Seramun SpotSight® plate mono / strip Scanner mit angeschlossenem PC (Auswertesoftware Seramun SpotSight® scan) • deionisiertes Wasser • fusselfreies Filterpapier • Stoppuhr • Auffanggefäße für infektiöse und nicht-infektiöse Lösungen • lichtundurchlässige Abdeckung (Substrat-Reaktion)

## 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 Probenpuffer, Waschpuffer und Substrat erlaubt.**

Alle im Zusammenhang mit SeraSpot® ANA-17 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.

### Hinweise zur Testdurchführung

Die Lagertemperatur der Testkomponenten 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. Reagenzien mit Anzeichen einer Kontamination sollten nicht verwendet werden.

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

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!

Nicht korrekte Probenverdünnung, nicht korrektes Waschen zur Abtrennung ungebundener Bestandteile aus Probe und Testreagenz sowie ein inkorrektes Zeitregime bei der Durchführung des Tests können zu falschen Ergebnissen führen.

Das Einbringen von **Luftblasen** beim Pipettieren der Proben und / oder Reagenzien bewirkt eine ungleichmäßige Signalausbildung des Arrays, wodurch eine Auswertung nicht mehr möglich ist.

Beschädigte Arrays durch **Kratzer** auf dem Boden der Kavitäten sind für die Auswertung nicht verwendbar.

Vor dem Erstellen von Images der entwickelten Kavitäten ist es notwendig, die Unterseite der Kavitäten von anhaftenden Fusseln mit dem im Kit enthaltenen Tupfer zu reinigen!

Durch die Trocknung der Restflüssigkeit erscheinen die Images kontrastreicher, dadurch kann es bei wiederholtem Scannen zu geringfügigen Abweichungen der Messwerte kommen. Die Bewertung der einzelnen Parameter wird dadurch nicht verändert.

### Arbeitsplatzanforderungen

Für die Durchführung von Spotimmunoassays wird ein sauberer Arbeitsplatz benötigt. An der Unterseite der Kavitäten anhaftende Fasern können zu fehlerhaften Resultaten führen. Arbeitsplatz und Kit-Komponenten sollten nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzt sein.

## 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 und Kontrollen 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:

|                      |  |  |
|----------------------|--|--|
| <b>WELLS</b>         | -  | Enthält Material tierischen Ursprungs.   |
| <b>WASHBUF (10x)</b> | EUH208   | Enthält Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. |
|                      | EUH210   | Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.  |
| <b>DIL</b>           | EUH208   | Enthält Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. |
|                      | EUH210   | Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.  |
|                      | -  | Enthält Material tierischen Ursprungs.   |
| <b>CONJ HRP IgG</b>  | Gefahrbestimmende Komponente   | N-Methyl-2-pyrrolidon; 1-Methyl-2-pyrrolidon   |
|                      | EUH208   | Enthält Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. |
|                      | H360D  | Nur für gewerbliche Anwender.<br>Kann das Kind im Mutterleib schädigen.  |
|                      | P202   | Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.   |
|                      | P280   | Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.   |
|                      | P308+P313  | Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.  |
| <b>SWAB</b>          | P501   | Inhalt / Behälter gemäß den geltenden lokalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.  |
|                      | -  | Enthält Material tierischen Ursprungs.   |
|                      | Gefahrbestimmende Komponente   | 2-Propanol; Isopropylalkohol; Isopropanol  |
|                      | H225   | Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.   |
|                      | H319   | Verursacht schwere Augenreizung.   |
| H336                 | Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.   |  |
| P210                 | Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.  |  |
| P280                 | Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz / Gehörschutz tragen.   |  |
| P304+P340            | BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.   |  |
| P305+P351+P338       | BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. |  |

## 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.

Kontaminationen der Reagenzien oder der Proben durch Bakterien oder Pilze können zu inkorrekten Ergebnissen führen.

## Interferenz

In seltenen Fällen können Proben Antikörper gegen BSA (Rinderserumalbumin) und / oder AGE (advanced glycation end products) enthalten, die unspezifische Reaktionen hervorrufen können, so dass das Testergebnis durch die Software Seramun SpotSight® scan als „nicht auswertbar“ („n.a.“) bewertet wird.

## Behandlung der Proben

### Probennahme

Serum humanen Ursprungs in geeignetem Gefäß sammeln.

### Probenhaltbarkeit und -lagerung

Serum- oder Plasmaproben humanen Ursprungs maximal 7 Tage 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.

### Probenvorbereitung

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

Proben 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 Reagenzienflaschen und Mikrotiterstreifen 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 Waschpuffer ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zu 1 Monat verwendbar.

### 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 Streifen 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. Der verdünnte Waschpuffer ist vor Verwendung gründlich zu durchmischen!

Das **Substrat** ist vor direktem Lichteinfall zu schützen. Sollte das Substrat dunkel gefärbt sein oder Partikel aufweisen, darf dieses nicht mehr verwendet werden.

## Testdurchführung

Die Durchführung erfolgt bei Raumtemperatur (RT, 18...25 °C). **Alle** gebrauchsfertigen Testreagenzien, den verdünnten Waschpuffer und die Mikrotiterplatte **auf Raumtemperatur erwärmen**.

Alle Reagenzien vor Gebrauch durch leichtes Schütteln mischen, Schaumbildung vermeiden. Die Durchführung der Absaug- und Waschschrte kann manuell oder mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-Waschgerätes erfolgen.

### Wichtige Hinweise zur Testdurchführung:

Mechanischer Kontakt (**Kratzen**) auf dem Boden der Kavitäten mit Pipettenspitzen oder Waschgerät-Nadeln ist zu **vermeiden**. Dadurch wird der Array irreparabel geschädigt!

Alle Flüssigreagenzien (verdünnte Probe, Konjugat und Substrat) sind **blasenfrei** in die Kavitäten einzubringen!

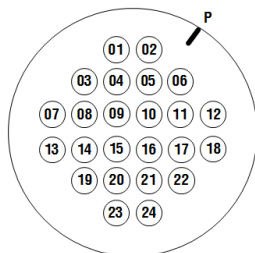
1. Benötigte Anzahl an Kavitäten **WELLS** entsprechend der Probenanzahl bereitstellen.
2. Herstellung der Arbeitsverdünnung der Probe: 1 : 101 Verdünnung  
z.B. 10 µL Probe + 1000 µL Probenpuffer **DIL**
3. **100 µL** verdünnte Probe pro Kavität pipettieren.
4. Kavitäten mit Abdeckfolie **COVER** abkleben und **30 min** bei RT inkubieren.
5. Lösung absaugen. Kavitäten **3x** mit jeweils **400 µL** verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit durch Ausschlagen auf fusselfreiem Tuch entfernen.
6. **50 µL** des gebrauchsfertigen Konjugates **CONJ HRP IgG** (anti-Human IgG-HRP) pro Kavität pipettieren.
7. Kavitäten mit Abdeckfolie **COVER** abkleben und **30 min** bei RT inkubieren.
8. Lösung absaugen. Kavitäten **3x** mit jeweils **400 µL** verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit durch Ausschlagen auf fusselfreiem Tuch entfernen.
9. **50 µL** des gebrauchsfertigen Substrats **SUBSTR** pro Kavität pipettieren.
10. Kavitäten abdecken und lichtgeschützt für **30 min** bei RT inkubieren.
11. Substrat absaugen. Restflüssigkeit durch Ausschlagen auf fusselfreiem Tuch entfernen.
12. Vor der Bildaufnahme die Unterseite der Kavitäten mit Tupfer **SWAB** abwischen.
13. **Bildaufnahme** der Kavitäten mit dem Laborsystem Seramun SpotSight® plate mono / strip und Bildanalyse mit der Software Seramun SpotSight® scan.

Erfolgt die Bildaufnahme mit dem Scanner Seramun SpotSight® strip, sind die Mikrotiterplattenstreifen aus dem Plattenrahmen zu entnehmen und in die Streifenaufnahme des Scanners einzulegen.

Nach dem Absaugen des Substrats sind die entwickelten Spots bei Aufbewahrung im Dunkeln 24 h stabil.

## Auswertung der Ergebnisse

### Arraylayout



### Antigene

|    |                  |
|----|------------------|
| 01 | Mi-2             |
| 02 | Ku               |
| 07 | U1-snRNP         |
| 08 | CENP-B           |
| 09 | Nukleosomen      |
| 10 | Histone          |
| 12 | dsDNA            |
| 13 | Jo-1             |
| 14 | Scl-70           |
| 15 | Sm               |
| 16 | P0               |
| 18 | PCNA             |
| 19 | La/SS-B          |
| 20 | Ro/SS-A (52 kDa) |
| 21 | Ro/SS-A (60 kDa) |
| 23 | AMA-M2           |
| 24 | PM-Scl           |

### Kontrollen

|    |                                      |
|----|--------------------------------------|
| 03 | Positivkontrolle (PC)                |
| 04 | Negativkontrolle (NC), 0 rel.Units   |
| 05 | Cut-off Kontrolle (CO), 30 rel.Units |
| 06 | Referenz 3 (R3), 60 rel.Units        |
| 11 | Referenz 2 (R2), 100 rel.Units       |
| 17 | Referenz 1 (R1), 300 rel.Units       |
| 22 | Serumkontrolle (SC)                  |

P Positionsmarkierung

### Quantitative Auswertung

#### Gültigkeitskriterien für den Test

Die Spots NC, CO, R1 ... R3 werden zur Erstellung einer Referenzkurve (4-Parameter nichtlineare Regression) verwendet, um die Farbeintensitäten der Antigenspots in relativen Einheiten (rel.Units) bzw. in internationalen Einheiten (IU) für dsDNA auszudrücken.

SeraSpot® ANA-17 IgG enthält die folgenden Kontrollspots:

1. Positivkontrolle (PC). Intensiv gefärbter Spot, dunkler als Cut-off Kontrolle. Immer angefärbt.
2. Cut-off Kontrolle (CO), entspricht 30 rel.Units. Schwach gefärbter Spot. Wird für die Bewertung der Parameter-spezifischen Signale verwendet.
3. Negativkontrolle (NC), entspricht 0 rel.Units. Sehr schwach gefärbter Spot, die Farbintensität der Negativkontrolle muss kleiner als die der Cut-off Kontrolle sein.
4. Serumkontrolle (SC). Intensiv gefärbter Spot, immer angefärbt, wenn sich Probe in der Kavität befunden hat. Ein Ausbleiben der Färbung des Spots der Serumkontrolle deutet auf Fehlen von Probe hin.
5. Referenz 1 (R1), entspricht 300 rel.Units. Intensiv gefärbter Spot, immer angefärbt.
6. Referenz 2 (R2), entspricht 100 rel.Units. Schwächere Färbung als R1, immer angefärbt.
7. Referenz 3 (R3), entspricht 60 rel.Units. Schwächere Färbung als R2, immer angefärbt.

Der Test kann nicht ausgewertet werden, wenn eines der unter Punkt 1. bis 7. aufgeführten Gültigkeitskriterien nicht erfüllt ist.

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.

## Interpretation der Ergebnisse

Die Testauswertung erfolgt unter Verwendung des Laborsystems Seramun SpotSight® plate mono / strip in Kombination mit der Software Seramun SpotSight® scan.

Die Ergebnisse werden wie folgt interpretiert:

| Bewertung | Bedingungen  |
|-----------|--|
| Positiv   | Farbintensität eines oder mehrerer Antigen-Spots > Cut-off Kontrolle |
| Negativ   | Farbintensität der Antigen-Spots ≤ Cut-off Kontrolle                 |

## Leistungsmerkmale

### Präzision

Proben mit bekannter Antikörperreaktivität wurden im SeraSpot® ANA-17 IgG untersucht und die rel.Units ermittelt. Aus den erhaltenen Werten wurden die Variationskoeffizienten (VK) als Maß für die Präzision innerhalb eines Testlaufs (Intra-Assay-VK), zwischen verschiedenen Testläufen (Inter-Assay-VK) und zwischen verschiedenen Testchargen (Lot-zu-Lot-VK) ermittelt.

| Antigen          | Intra-Assay-Variationskoeffizient           |        | Inter-Assay-Variationskoeffizient   |        | Lot-zu-Lot-Variationskoeffizient   |        |
|------------------|---|--------|---|--------|--|--------|
|                  | $\bar{x}$ rel.Units<br>n=40                 | VK [%] | $\bar{x}$ rel.Units<br>n=80   | VK [%] | $\bar{x}$ rel.Units<br>n=240   | VK [%] |
| Mi-2             | 92,4  | 10,1   | 96,7  | 14,6   | 99,9   | 14,1   |
| Ku               | 20,7  | 10,0   | 39,8  | 15,4   | 39,5   | 16,0   |
| U1-snRNP         | 64,9  | 8,9    | 55,8  | 9,0    | 56,3   | 15,5   |
| CENP-B           | 39,0  | 8,1    | 37,4  | 12,3   | 35,3   | 12,7   |
| Nukleosomen      | 43,6  | 11,9   | 48,5  | 19,3   | 48,9   | 24,2   |
| Histone          | 67,6  | 8,8    | 57,3  | 14,8   | 55,6   | 12,3   |
| dsDNA            | 63,3  | 7,8    | 72,9  | 11,2   | 72,4   | 11,7   |
| Jo-1             | 48,7  | 5,4    | 47,4  | 10,5   | 49,1   | 15,2   |
| Sci-70           | 37,1  | 11,6   | 40,4  | 15,9   | 42,3   | 16,4   |
| Sm               | 77,4  | 10,5   | 93,2  | 12,8   | 91,8   | 13,3   |
| P0               | 57,9  | 7,9    | 48,7  | 10,1   | 54,6   | 21,0   |
| PCNA             | 85,0  | 13,9   | 100,1   | 13,3   | 100,6  | 24,1   |
| La/SS-B          | 54,7  | 11,9   | 53,1  | 10,2   | 52,8   | 13,9   |
| Ro/SS-A (52 kDa) | 68,0  | 9,3    | 84,2  | 12,9   | 88,9   | 19,6   |
| Ro/SS-A (60 kDa) | 96,3  | 13,3   | 130,7   | 15,9   | 143,6  | 18,7   |
| AMA-M2           | 81,2  | 12,9   | 84,4  | 13,0   | 75,7   | 24,1   |
| PM-Scl           | 43,5  | 13,1   | 47,9  | 12,0   | 48,8   | 12,5   |
| Durchführung     | 1 Bearbeiter<br>40 x Bestimmung<br>1 Charge |        | 5 Bearbeiter<br>2 x Bestimmung<br>2 x Durchführung pro Tag<br>20 Tage<br>1 Charge |        | 5 Bearbeiter<br>2x Bestimmung<br>2x Durchführung pro Tag<br>20 Tage<br>3 Chargen |        |

### Festlegung der Grenzwerte

Die Daten aus den Studien zur Sensitivitäts- und Spezifitätsbestimmung im Vergleich zu Referenztests wurden mittels ROC-Analyse (Receiver Operating Characteristics) zur Bestimmung des Wertes für die Cut-off Kontrolle verwendet.

Der Cut-off Bereich wird testspezifisch festgelegt.

## 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.

## Sensitivität

Zur Bestimmung der Sensitivität wurden vorcharakterisierte Proben im Vergleich zu IgG Referenztests im SeraSpot® ANA-17 IgG untersucht. Proben mit diskrepanten Ergebnissen wurden in einem zweiten Referenztest nachgetestet.

| Mi-2          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 9            | 9       |
|               | negativ | 0            | 42      |
| Proben gesamt |         | 9            | 51      |

Sensitivität: 100 %

| Ku            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 5            | 0       |
|               | negativ | 0            | 55      |
| Proben gesamt |         | 5            | 55      |

Sensitivität: 100 %

| U1-snRNP      |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 32           | 0       |
|               | negativ | 3            | 12      |
| Proben gesamt |         | 35           | 12      |

Sensitivität: 91,4 %

| CENP-B        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 18           | 2       |
|               | negativ | 0            | 92      |
| Proben gesamt |         | 18           | 94      |

Sensitivität: 100 %

| Nukleosomen   |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 37           | 3       |
|               | negativ | 9            | 54      |
| Proben gesamt |         | 46           | 57      |

Sensitivität: 80,4 %

| Histone       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 36           | 12      |
|               | negativ | 2            | 53      |
| Proben gesamt |         | 38           | 65      |

Sensitivität: 94,7 %

| dsDNA         |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 70           | 8       |
|               | negativ | 2            | 23      |
| Proben gesamt |         | 72           | 31      |
| Sensitivität: |         | 97,2 %       |         |

| Jo-1          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 14           | 3       |
|               | negativ | 1            | 42      |
| Proben gesamt |         | 15           | 45      |
| Sensitivität: |         | 93,3 %       |         |

| Scl-70        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 59           | 3       |
|               | negativ | 5            | 45      |
| Proben gesamt |         | 64           | 48      |
| Sensitivität: |         | 92,2 %       |         |

| Sm            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 8            | 1       |
|               | negativ | 1            | 93      |
| Proben gesamt |         | 9            | 94      |
| Sensitivität: |         | 88,9 %       |         |

| P0            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 6            | 5       |
|               | negativ | 0            | 92      |
| Proben gesamt |         | 6            | 97      |
| Sensitivität: |         | 100 %        |         |

| PCNA          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 4            | 0       |
|               | negativ | 0            | 103     |
| Proben gesamt |         | 4            | 103     |
| Sensitivität: |         | 100 %        |         |

| La/SS-B       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 12           | 5       |
|               | negativ | 3            | 83      |
| Proben gesamt |         | 15           | 88      |
| Sensitivität: |         | 80,0 %       |         |

| Ro/SS-A (52 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 27           | 0       |
|                  | negativ | 0            | 76      |
| Proben gesamt    |         | 27           | 76      |
| Sensitivität:    |         | 100 %        |         |

| Ro/SS-A (60 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 42           | 0       |
|                  | negativ | 2            | 59      |
| Proben gesamt    |         | 44           | 59      |
| Sensitivität:    |         | 95,5 %       |         |

| AMA-M2        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 15           | 4       |
|               | negativ | 0            | 77      |
| Proben gesamt |         | 15           | 81      |
| Sensitivität: |         | 100 %        |         |

| PM-Scl        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 6            | 0       |
|               | negativ | 1            | 53      |
| Proben gesamt |         | 7            | 53      |
| Sensitivität: |         | 85,7 %       |         |

### Spezifität

Zur Bestimmung der Spezifität wurden negative Blutspenderproben im SeraSpot® ANA-17 IgG untersucht. Proben mit positiven Ergebnissen wurden in einem Referenztest nachgetestet.

| Mi-2          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 12      |
|               | negativ | 0            | 188     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 94,0 %       |         |

| Ku            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 2       |
|               | negativ | 0            | 198     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 99,0 %       |         |

| U1-snRNP      |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 18      |
|               | negativ | 0            | 182     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 91,0 %       |         |

| CENP-B        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 2       |
|               | negativ | 0            | 198     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 99,0 %       |         |

| Nukleosomen   |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 11      |
|               | negativ | 0            | 189     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 94,5 %       |         |

| Histone       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 3            | 10      |
|               | negativ | 0            | 187     |
| Proben gesamt |         | 3            | 197     |
| Spezifität:   |         | 94,9 %       |         |

| dsDNA         |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 2       |
|               | negativ | 0            | 198     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 99,0 %       |         |

| Jo-1          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 199     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 99,5 %       |         |

| Scl-70        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 7       |
|               | negativ | 0            | 193     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 96,5 %       |         |

| Sm            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 199     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 99,5 %       |         |

| P0            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 199     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 99,5 %       |         |

| PCNA          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 200     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| La/SS-B       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 2            | 7       |
|               | negativ | 0            | 191     |
| Proben gesamt |         | 2            | 198     |
| Spezifität:   |         | 96,5 %       |         |

| Ro/SS-A (52 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 2            | 2       |
|                  | negativ | 0            | 196     |
| Proben gesamt    |         | 2            | 198     |
| Spezifität:      |         | 99,0 %       |         |

| Ro/SS-A (60 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 0            | 1       |
|                  | negativ | 0            | 199     |
| Proben gesamt    |         | 0            | 200     |
| Spezifität:      |         | 99,5 %       |         |

| AMA-M2        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 11      |
|               | negativ | 0            | 189     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 94,5 %       |         |

| PM-Scl        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 6       |
|               | negativ | 0            | 194     |
| Proben gesamt |         | 0            | 200     |
| Spezifität:   |         | 97,0 %       |         |

### Kreuzreaktivität

Potenziell kreuzreaktive Proben wurden im SeraSpot® ANA-17 IgG getestet und mit einem Referenztest nachuntersucht. Proben mit diskrepanten Resultaten wurden in einem zweiten Assay nachgetestet, wobei die im Referenztest 2 erzielten Ergebnisse der endgültigen Statusbestimmung der im SeraSpot®-Test zum Referenztest 1 diskrepant bestimmten Proben dienten.

### Proben von Patienten mit Rheumatoider Arthritis

Ein Kollektiv von 113 Seren von Patienten mit Rheumatoider Arthritis und serologisch (Referenztest 1) positivem anti-CCP Antikörper- (n = 30) bzw. Rheumafaktor-Nachweis (n = 83) wurde im SeraSpot® ANA-17 IgG Test untersucht.

| Mi-2          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 9            | 7       |
|               | negativ | 0            | 97      |
| Proben gesamt |         | 9            | 104     |
| Spezifität:   |         | 93,3 %       |         |

| Ku            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 6            | 4       |
|               | negativ | 0            | 103     |
| Proben gesamt |         | 6            | 107     |

Spezifität: 96,3 %

| U1-snRNP      |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 15      |
|               | negativ | 0            | 98      |
| Proben gesamt |         | 0            | 113     |

Spezifität: 86,7 %

| CENP-B        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 2            | 1       |
|               | negativ | 0            | 110     |
| Proben gesamt |         | 2            | 111     |

Spezifität: 99,1 %

| Nukleosomen   |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 2            | 2       |
|               | negativ | 2            | 107     |
| Proben gesamt |         | 4            | 109     |

Spezifität: 98,2 %

| Histone       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 9            | 14      |
|               | negativ | 0            | 90      |
| Proben gesamt |         | 9            | 104     |

Spezifität: 86,5 %

| dsDNA         |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 2            | 3       |
|               | negativ | 0            | 108     |
| Proben gesamt |         | 2            | 111     |

Spezifität: 97,3 %

| Jo-1          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 113     |
| Proben gesamt |         | 0            | 113     |

Spezifität: 100 %

| Sci-70        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 7            | 2       |
|               | negativ | 0            | 104     |
| Proben gesamt |         | 7            | 106     |

Spezifität: 98,1 %

| Sm            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 112     |
| Proben gesamt |         | 0            | 113     |
| Spezifität:   |         | 99,1 %       |         |

| P0            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 1            | 1       |
|               | negativ | 0            | 111     |
| Proben gesamt |         | 1            | 112     |
| Spezifität:   |         | 99,1 %       |         |

| PCNA          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 2            | 0       |
|               | negativ | 0            | 111     |
| Proben gesamt |         | 2            | 111     |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| La/SS-B       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 7       |
|               | negativ | 0            | 106     |
| Proben gesamt |         | 0            | 113     |
| Spezifität:   |         | 93,8 %       |         |

| Ro/SS-A (52 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 5            | 1       |
|                  | negativ | 0            | 107     |
| Proben gesamt    |         | 5            | 108     |
| Spezifität:      |         | 99,1 %       |         |

| Ro/SS-A (60 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 2            | 1       |
|                  | negativ | 0            | 110     |
| Proben gesamt    |         | 2            | 111     |
| Spezifität:      |         | 99,1 %       |         |

| AMA-M2        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 11           | 4       |
|               | negativ | 0            | 98      |
| Proben gesamt |         | 11           | 102     |
| Spezifität:   |         | 96,1 %       |         |

| PM-Scl        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 2            | 0       |
|               | negativ | 0            | 111     |
| Proben gesamt |         | 2            | 111     |
| Spezifität:   |         | 100,0 %      |         |

**Epstein-Barr-Virus (EBV)-Antikörper positive Proben**

Serologisch (Referenztest) EBV-Antikörper positiv getestete Proben wurden im SeraSpot® ANA-17 IgG Test untersucht.

| <b>Mi-2</b>      |         | <b>Referenztest</b> |         |
|------------------|---------|---------------------|---------|
|                  |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b> | positiv | 0                   | 7       |
|                  | negativ | 0                   | 15      |
| Proben gesamt    |         | 0                   | 22      |

Spezifität: 68,2 %

| <b>Ku</b>        |         | <b>Referenztest</b> |         |
|------------------|---------|---------------------|---------|
|                  |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b> | positiv | 0                   | 0       |
|                  | negativ | 0                   | 22      |
| Proben gesamt    |         | 0                   | 22      |

Spezifität: 100 %

| <b>U1-snRNP</b>  |         | <b>Referenztest</b> |         |
|------------------|---------|---------------------|---------|
|                  |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b> | positiv | 0                   | 0       |
|                  | negativ | 0                   | 22      |
| Proben gesamt    |         | 0                   | 22      |

Spezifität: 100 %

| <b>CENP-B</b>    |         | <b>Referenztest</b> |         |
|------------------|---------|---------------------|---------|
|                  |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b> | positiv | 2                   | 0       |
|                  | negativ | 0                   | 20      |
| Proben gesamt    |         | 2                   | 20      |

Spezifität: 100 %

| <b>Nukleosomen</b> |         | <b>Referenztest</b> |         |
|--------------------|---------|---------------------|---------|
|                    |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b>   | positiv | 0                   | 1       |
|                    | negativ | 0                   | 21      |
| Proben gesamt      |         | 0                   | 22      |

Spezifität: 95,5 %

| <b>Histone</b>   |         | <b>Referenztest</b> |         |
|------------------|---------|---------------------|---------|
|                  |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b> | positiv | 0                   | 5       |
|                  | negativ | 0                   | 17      |
| Proben gesamt    |         | 0                   | 22      |

Spezifität: 77,3 %

| <b>dsDNA</b>     |         | <b>Referenztest</b> |         |
|------------------|---------|---------------------|---------|
|                  |         | positiv             | negativ |
| <b>SeraSpot®</b> | positiv | 1                   | 1       |
|                  | negativ | 0                   | 20      |
| Proben gesamt    |         | 1                   | 21      |

Spezifität: 95,2 %

| Jo-1          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 22      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| Scl-70        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 21      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 95,5 %       |         |

| Sm            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 21      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 95,5 %       |         |

| P0            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 22      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| PCNA          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 22      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| La/SS-B       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 3       |
|               | negativ | 0            | 19      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 86,4 %       |         |

| Ro/SS-A (52 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 0            | 0       |
|                  | negativ | 0            | 22      |
| Proben gesamt    |         | 0            | 22      |
| Spezifität:      |         | 100 %        |         |

| Ro/SS-A (60 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 0            | 0       |
|                  | negativ | 0            | 22      |
| Proben gesamt    |         | 0            | 22      |
| Spezifität:      |         | 100 %        |         |

| AMA-M2        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 3       |
|               | negativ | 0            | 19      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 86,4 %       |         |

| PM-Scl        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 1       |
|               | negativ | 0            | 21      |
| Proben gesamt |         | 0            | 22      |
| Spezifität:   |         | 95,5 %       |         |

### Cytomegalie-Virus (CMV)-Antikörper positive Proben

Serologisch (Referenztest) CMV-Antikörper positiv getestete Proben wurden im SeraSpot® ANA-17 IgG untersucht.

| Mi-2          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 4       |
|               | negativ | 0            | 23      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 85,2 %       |         |

| Ku            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| U1-snRNP      |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 3       |
|               | negativ | 0            | 24      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 88,9 %       |         |

| CENP-B        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |

| Nukleosomen   |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 2       |
|               | negativ | 0            | 25      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 92,6 %       |         |

| Histone       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 1            | 26      |
| Proben gesamt |         | 1            | 26      |

Spezifität: 100 %

| dsDNA         |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 1            | 1       |
|               | negativ | 0            | 25      |
| Proben gesamt |         | 1            | 26      |

Spezifität: 96,2 %

| Jo-1          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |

Spezifität: 100 %

| Scl-70        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 2       |
|               | negativ | 0            | 25      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |

Spezifität: 92,6 %

| Sm            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |

Spezifität: 100 %

| P0            |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |

Spezifität: 100 %

| PCNA          |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |

Spezifität: 100 %

| La/SS-B       |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 3       |
|               | negativ | 0            | 24      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |

Spezifität: 88,9 %

| Ro/SS-A (52 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 0            | 1       |
|                  | negativ | 0            | 26      |
| Proben gesamt    |         | 0            | 27      |
| Spezifität:      |         | 96,3 %       |         |

| Ro/SS-A (60 kDa) |         | Referenztest |         |
|------------------|---------|--------------|---------|
|                  |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®        | positiv | 0            | 0       |
|                  | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt    |         | 0            | 27      |
| Spezifität:      |         | 100 %        |         |

| AMA-M2        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 2       |
|               | negativ | 0            | 25      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 92,6 %       |         |

| PM-Scl        |         | Referenztest |         |
|---------------|---------|--------------|---------|
|               |         | positiv      | negativ |
| SeraSpot®     | positiv | 0            | 0       |
|               | negativ | 0            | 27      |
| Proben gesamt |         | 0            | 27      |
| Spezifität:   |         | 100 %        |         |




## Änderungshistorie

| Version           | Abschnitt         | Änderungen  |
|-------------------|-------------------|---|
| 2023-01_v01_DE_EN | Gesamtes Dokument | Anpassung an neue GAL-Vorlage<br>Aktualisierung der Zweckbestimmung<br>Umstellung der Teilabschnitte<br>Einfügen der Sicherheitshinweise<br>Wegfall Pipettierschema<br>Aktualisierung von Formulierungen und Korrektur von Schreibfehlern |
|                   | Wichtige Hinweise | Einfügen eines Hinweises zum Umgang mit schwerwiegenden Vorkommnissen   |
|                   | Leistungsmerkmale | Korrektur Leistungsmerkmale (Sm, Jo-1)  |



## SeraSpot<sup>®</sup> ANA-17 IgG


Spot immunoassay for the quantitative detection of IgG autoantibodies against 17 antinuclear and cytoplasmic antigens in serum of human origin


|            |                                    |   |           |
|------------|------------------------------------|---|-----------|
| <b>REF</b> | SP-002-17 G-S6                     |  | 48        |
| <b>REF</b> | SP-002-17 G-S12                    |  | 96        |
| <b>REF</b> | SP-002-17 G-S24                    |  | 2 x 96    |
| <b>IVD</b> | In-vitro-diagnostic medical device |   | <b>CE</b> |




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)

**IVD** In-vitro diagnostic medical device

 Country of manufacture and date of manufacture

 Keep away from sunlight

 Consult instructions for use

 Sufficient for *n* tests

**UDI** Unique device identifier

**REF** Article number

 Humidity limitation


 Temperature limit

 Biohazard


 Manufacturer

**SN** Serial number

**LOT** Batch code

 Do not reuse

 Use-by date

 Attention

## Intended Use

SeraSpot® ANA-17 IgG is an IVD test for the quantitative determination of antinuclear and cytoplasmatic autoantibodies of the IgG isotype against the antigens Mi-2, Ku, U1-snRNP, CENP-B, Nucleosome, Histone, dsDNA, Jo-1, Scl-70, Sm, P0, PCNA, La/SS-B, Ro/SS-A (52 kDa), Ro/SS-A (60 kDa), AMA-M2 and PM-Scl in serum of human origin by a laboratory professional user.

The test is used in combination with the Seramun SpotSight® plate mono / Seramun SpotSight® strip device for image acquisition and the software Seramun SpotSight® scan for image analysis.

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

The test must not be used with specimen materials other than serum 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

SeraSpot® ANA-17 IgG is a solid phase immunoassay (spot immunoassay) using recombinant or native purified antigens printed in array format (spot array) on the bottom of wells of 96-well microtiter plates. Antibodies will bind to the immobilized antigens Mi-2, Ku, U1-snRNP, CENP-B, Nucleosome, Histone, dsDNA, Jo-1, Scl-70, Sm, P0, PCNA, La/SS-B, Ro/SS-A (52 kDa), Ro/SS-A (60 kDa), AMA-M2, and PM-Scl. After incubation and wash steps bound antibodies are detected by horseradish peroxidase (HRP)-labeled antibodies against human antibodies of IgG-isotype by substrate reaction with 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) and hydrogen peroxide. Blue spots indicate the formation of immune complexes. Spots range from pale to dark blue and are visible by eye.

### Detection of Specific Antibodies is performed in 3 Steps:

#### Step 1

Incubation of 1 : 101 diluted samples for 30 min at room temperature in selected wells. After incubation samples are aspirated and unbound components are removed by 3 wash cycles with diluted wash buffer.

#### Step 2

Incubation of wells with the HRP-labeled anti-human IgG for 30 min at room temperature. Removal of unbound conjugate antibodies by aspiration and 3 wash cycles with diluted wash buffer.

#### Step 3

Incubation of wells with substrate SeramunBlau® spot dark for 30 min at room temperature. The reaction is stopped by aspirating the substrate, followed by tapping the plate / strip dry onto lint-free absorbent paper. The developed arrays are to be stored light-protected until image analysis.

## Test Components (Delivery Scope)

|   |               |  | For 48 determinations  | For 96 determinations   | For 2 x 96 determinations   |
|---|---------------|--|--|---|---|
| 1 | WELLS         | <b>Microtiter plate (wells with arrays)</b><br>specific antigens and controls immobilized as spots in array layout | 6 single breakable 8-well strips in frame<br>color coding: dark purple<br>vacuum sealed with desiccant | 12 single breakable 8-well strips in frame<br>color coding: dark purple<br>vacuum sealed with desiccant | 2 x 12 single breakable 8-well strips in frame<br>color coding: dark purple<br>vacuum sealed with desiccant |
| 2 | WASHBUF (10x) | <b>Wash buffer (10x)</b><br>Seramun® Wash buffer A<br>TRIS-based buffer  | 100 mL concentrate for 1000 mL buffer<br>colorless white cap   | 100 mL concentrate for 1000 mL buffer<br>colorless white cap  | 2 x 100 mL concentrate for 1000 mL buffer each<br>colorless white cap                                       |
| 3 | DIL           | <b>Sample diluent</b><br>Seramun® Sample diluent B   | 55 mL ready-to-use solution<br>colored red black cap   | 2 x 55 mL ready-to-use solution<br>colored red black cap  | 4 x 55 mL ready-to-use solution<br>colored red black cap  |
| 4 | CONJ HRP IgG  | <b>Conjugate</b><br>anti-Human IgG-HRP conjugate (sheep)   | 8.0 mL ready-to-use solution<br>colored red red cap  | 8.0 mL ready-to-use solution<br>colored red red cap   | 2 x 8.0 mL ready-to-use solution<br>colored red red cap   |
| 5 | SUBSTR        | <b>Substrate</b><br>SeramunBlau® spot dark<br>3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine                                       | 8.0 mL ready-to-use solution<br>colorless blue cap   | 8.0 mL ready-to-use solution<br>colorless blue cap  | 2 x 8.0 mL ready-to-use solution<br>colorless blue cap  |
| 6 | COVER         | <b>Covering film</b>   | 2 pieces   | 2 pieces  | 4 pieces  |
| 7 | SWAB          | <b>Swab</b><br>70 % (v/v) Isopropyl alcohol  | 3 x 2 pieces   | 6 x 2 pieces  | 12 x 2 pieces   |
| 8 |               | <b>Certificate of Analysis</b>   | 1 piece  | 1 piece   | 1 piece   |
| 9 |               | <b>Instructions for Use</b>  | 1 piece  | 1 piece   | 1 piece   |

## Antigens Used

| Name | Description                                   | Clinical relevance  |
|------|---|---|
| Mi-2 | Nuclear protein                               | Dermatomyositis (DM),<br>Diagnostic marker<br>Scleroderma (SSc) CREST-Syndrome  |
| Ku   | Heterodimeric subunit of DNA-dependent kinase | Scleroderma<br>Polymyositis (PM)/ Scleroderma (SSc)-Overlap-Syndrome<br>Systemic Lupus Erythematosus (SLE)<br>Dermatomyositis (DM)<br>Mixed Connective Tissue Disease (MCTD)<br>Myositis<br>Sjogren's Syndrome (SS) |

|            |   |  |
|------------|---|--|
| U1-snRNP   | Mix of three U1-specific RNP-proteins A, C und 68 kDa         | Mixed Connective Tissue Disease (MCTD),<br>Diagnostic marker<br>Mixed Connective Tissue Disease (MCTD)/ Myositis-Overlap-Syndrome<br>Systemic Lupus Erythematosus (SLE)<br>Systemic Lupus Erythematosus (SLE)/ Scleroderma (SSc)<br>Sjogren's Syndrome (SS)                        |
| CENP-B     | Kinetochores/<br>centromere B antigen protein                 | Scleroderma (SSc) CREST-Syndrom, ACR/EULAR classification criterion (2013)   |
| Nucleosome | Structural component of chromatin                             | Systemic Lupus Erythematosus (SLE)<br>Lupus Nephritis (LN)<br>Drug-Induced Lupus Erythematosus (DILE)<br>Mixed Connective Tissue Disease (MCTD)  |
| Histone    | Basic element of nucleosomes                                  | Systemic Lupus Erythematosus (SLE)<br>Drug-Induced Lupus Erythematosus (DILE)<br>Lupus Nephritis (LN)  |
| dsDNA      | Double-stranded DNA   | Systemic Lupus Erythematosus (SLE),<br>Activity and prognostic markers, ACR/EULAR* classification criterion (2019)<br>Lupus Nephritis (LN)<br>Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus (NPSLE)<br>Sjogren's Syndrome (SS)<br>Scleroderma (SSc)                                |
| Jo-1       | Histidyl-tRNA synthetase                                      | Idiopathic Autoimmune Myositides,<br>Diagnostic marker<br>Polymyositis (PM, Anti-Synthetase-Syndrome)<br>Dermatomyositis (DM)  |
| Scl-70     | DNA Topoisomerase I   | Scleroderma (SSc) CREST-Syndrom, ACR/EULAR classification criterion (2013)<br>Scleroderma (SSc) /Myositis-Overlap-Syndrome   |
| Sm         | Smith antigen/<br>ribonucleoprotein                           | Systemic Lupus Erythematosus (SLE),<br>Diagnostic marker, ACR/EULAR classification criterion (2019)<br>Lupus Nephritis (LN),<br>Prognostic marker  |
| P0         | Ribosomales Phosphoprotein                                    | Systemic Lupus Erythematosus (SLE)<br>Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus (NPSLE)<br>Lupus Nephritis (LN)  |
| PCNA       | Cyclin (36 kDa),<br>auxiliary protein of DNA polymerase delta | Systemic Lupus Erythematosus (SLE)   |
| La/SS-B    | Phosphoprotein/<br>Sjogren's syndrome antigen B               | Sjogren's Syndrome (SS),<br>Early diagnostic marker<br>Systemic Lupus Erythematosus (SLE),<br>Early diagnostic marker<br>Neonatal Lupus Erythematosus (NLE)/ Congenital Heart Block (CHB)<br>Drug-Induced Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus (DI-SCLE)<br>Lupus Nephritis (LN) |

|                  |  |  |
|------------------|--|--|
| Ro/SS-A (52 kDa) | 52 kDa<br>Ribonucleoprotein/<br>Sjogren`s syndrome antigen A | Sjogren's Syndrome (SS),<br>Early diagnostic marker, ACR/EULAR classification criterion (2016)<br>Systemic Lupus Erythematosus (SLE),<br>Early diagnostic marker<br>Neonatal Lupus Erythematosus (NLE)/ Congenital Heart Block (CHB)<br>Drug-induced Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus (DI-SCLE)<br>Lupus Nephritis (LN)<br>Myositis<br>Scleroderma (SSc) |
| Ro/SS-A (60 kDa) | 60 kDa<br>Ribonucleoprotein/<br>Sjogren`s syndrome antigen A | Systemic Lupus Erythematosus (SLE),<br>Early diagnostic marker<br>Drug-Induced Lupus Erythematosus (DILE)<br>Neonatal Lupus Erythematosus (NLE)<br>Sjogren's Syndrome (SS),<br>Early diagnostic marker, ACR/EULAR classification criterion (2016)<br>Scleroderma (SSc)   |
| AMA-M2           | Mitochondrial antigen subtype M2                             | Primary Biliary Cholangitis (PBC),<br>Diagnostic marker  |
| PM-Scl           | Intracellular protein complex                                | Polymyositis (PM)/ Scleroderma (SSc)-Overlap-Syndrome<br>Poly-/Dermatomyositis (DM)  |

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

### Additional Materials and Aids Required for the Test Procedure

Adjustable single-channel micro-pipettes • adjustable 8-channel micro-pipette or multi-pipette • reagent container for multi-channel micro-pipettes • measuring cylinder • test tubes for sample dilution • test tube rack • washer for 96-well microtiter plates • laboratory system: Seramun SpotSight® plate mono / strip scanner with evaluation software Seramun SpotSight® scan • deionized water • lint-free absorbent paper • stop watch • collecting devices for infectious material • opaque cover (substrate reaction)

## Important Information



**This device is for *in-vitro* diagnostic use only.** The kit may be performed by a laboratory professional user only.

Follow the instructions carefully. The shelf life specified must be observed. Do not use reagents from damaged packages or bottles. Do not use reagents from other manufacturers.

**Mixing of test kit components of different lots is only allowed for sample diluent, wash buffer and substrate.**

All serious incidents occurring in relation with SeraSpot® ANA-17 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.

### Information on Assay Procedure

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

For larger sample series, pipetting reagents from liquid reservoirs using a multi-channel pipette is recommended to avoid time delays. Reagents that appear contaminated should not be used.

Avoid time delays when dispensing reagents.

Substrate must be protected from direct light!

Incorrect dilution of samples, incorrect washing of wells and incorrect timing may lead to erroneous results.

**Air bubbles** generated by forceful pipetting of samples and/or reagents may cause uneven signal formation of arrays. These arrays cannot be evaluated.

Damaged arrays, e.g. by **scratching** the bottom of the well with pipet tips or washer needles, are not suitable for evaluation.

Before taking images of the wells make sure to remove particles or fibers which may adhere to the bottom side of the wells using the swab provided in the kit.

Images of dried spots may appear more intense, which can lead to slight deviations of the measured values when scanned repeatedly. Assessment of the individual parameters is not changed.

### Workplace Requirements

Processing spot immunoassays requires a clean workplace. Adhesion of fibers to the plastic surface of the wells should be avoided. Fibers may cause interferences when taking images of arrays and cause erroneous results. Workplace and kit components should not be exposed to direct sunlight.

## 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:

|                      |  |   |
|----------------------|--|---|
| <b>WELLS</b>         | -  | Contains material of animal origin.   |
| <b>WASHBUF (10x)</b> | EUH208<br>EUH210   | 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.<br>Safety data sheet available on request.  |
| <b>DIL</b>           | EUH208<br>EUH210<br>-  | 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.<br>Safety data sheet available on request.<br>Contains material of animal origin.   |
| <b>CONJ HRP IgG</b>  | Hazard components<br>EUH208<br>H360D<br>P202<br>P280<br>P308+P313<br>P501<br>-           | N-methyl-2-pyrrolidone; 1-methyl-2-pyrrolidone<br>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.<br>Restricted to professional users.<br>May damage the unborn child.<br>Do not handle until all safety precautions have been read and understood.<br>Wear protective gloves / protective clothing / eye protection / face protection.<br>IF exposed or concerned: Get medical advice / attention.<br>Dispose of contents / container in accordance with local regulations.<br>Contains material of animal origin. |
| <b>SWAB</b>          | Hazard components<br>H225<br>H319<br>H336<br>P210<br>P280<br>P304+P340<br>P305+P351+P338 | Propan-2-ol; isopropyl alcohol; isopropanol<br>Highly flammable liquid and vapour.<br>Causes serious eye irritation.<br>May cause drowsiness or dizziness.<br>Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.<br>Wear protective gloves / protective clothing / eye protection / face protection / hearing protection.<br>IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.<br>IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.                       |

### 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.

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

### Interference

In rare cases, specimens may contain antibodies to BSA (bovine serum albumin) and / or AGE (advanced glycation end products), which may cause nonspecific reactions, so that the test result is read as "not available" ("n.a.") by the Seramun SpotSight® scan software.

## Sample Treatment

### Sample Collection

Collect serum of human origin in suitable sampling container.

### Sample Shelf Life and Storage

Samples can be stored at 2...8 °C for a maximum of 7 days. For longer periods samples have to be stored at < -15 °C. Repeated 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 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 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. The **microtiter plate** is vacuum sealed with desiccant. The plate consists of a frame and strips with breakable wells. 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. The prepared wash buffer must be thoroughly mixed before 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

Performance at room temperature (RT, 18...25 °C). Bring **all** ready-to-use test reagents, prepared wash buffer and microplate to **room temperature**. Mix all reagents before use by gently shaking, avoid foaming.

The aspiration and washing steps can be carried out manually or by means of a microtiter plate washer.

### Important Notes on Test Procedure:

**Avoid** mechanical contact (**scratching**) on the bottom of the wells with pipette tips or washer needles. This will irreparably damage the array!

All liquid reagents (sample, conjugate and substrate) have to be pipetted **without** causing **air bubbles** in the wells.

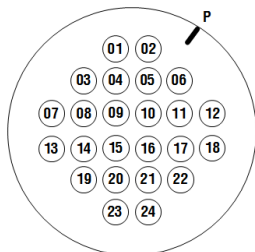
1. Provide the required number of wells **WELLS** according to the number of samples.
2. Preparation of working dilution of the sample: 1 : 101 dilution  
e.g. 10 µL sample to 1000 µL sample diluent **DIL**
3. Pipette **100 µL** diluted sample per well.
4. Cover plate with covering film **COVER** and incubate for **30 min** at RT.
5. Remove liquid, then wash wells **3x** using **400 µL** diluted wash buffer per well,  
Tap plate dry onto lint-free absorbent paper.
6. **Add 50 µL** of the conjugate **CONJ HRP IgG** (anti-Human IgG-HRP) to each well.
7. Cover plate with covering film **COVER** and incubate for **30 min** at RT.
8. Remove liquid, then wash wells **3x** using **400 µL** diluted wash buffer per well,  
Tap plate dry onto lint-free absorbent paper.
9. **Add 50 µL** of the substrate **SUBSTR** to each well.
10. Cover plate and protect from light. Incubate for **30 min** at RT.
11. Remove liquid. Tap plate dry onto lint-free absorbent paper.
12. Clean bottom of wells with swab **SWAB** shortly before scanning the images.
13. **Take images** using the Seramun SpotSight® plate mono / strip und evaluate the results with the Seramun SpotSight® scan software.

If image acquisition is performed with the scanner Seramun SpotSight® strip, transfer single 8-well microtiter plate strips to the scanner's strip holder.

After aspiration of the substrate the color of developed spots is stable for 24 h when the plate is stored protected from light.

## Evaluation of Results

### Arraylayout



### Antigens

|    |                  |
|----|------------------|
| 01 | Mi-2             |
| 02 | Ku               |
| 07 | U1-snRNP         |
| 08 | CENP-B           |
| 09 | Nucleosome       |
| 10 | Histone          |
| 12 | dsDNA            |
| 13 | Jo-1             |
| 14 | Scl-70           |
| 15 | Sm               |
| 16 | P0               |
| 18 | PCNA             |
| 19 | La/SS-B          |
| 20 | Ro/SS-A (52 kDa) |
| 21 | Ro/SS-A (60 kDa) |
| 23 | AMA-M2           |
| 24 | PM-Scl           |

### Controls

|    |                                    |
|----|------------------------------------|
| 03 | Positive control (PC)              |
| 04 | Negative control (NC), 0 rel.Units |
| 05 | Cut-off control (CO), 30 rel.Units |
| 06 | Reference 3 (R3), 60 rel.Units     |
| 11 | Reference 2 (R2), 100 rel.Units    |
| 17 | Reference 1 (R1), 300 rel.Units    |
| 22 | Serum control (SC)                 |
| P  | Well position marker               |

### Quantitative evaluation

#### Validity Criteria for the Test

The spots NC, CO, R1 ... R3 are used to create a reference curve (4-parameter non-linear regression) to calculate the staining intensities of the antigen spots in relative units (rel.Units) or in international units (IU) for dsDNA.

SeraSpot® ANA-17 IgG includes the following control spots:

1. Positive control (PC). Intense spot, stained darker than cut-off control. Always stained.
2. Cut-off control (CO). Weakly stained spot. Used for result evaluation of parameter specific signals.
3. Negative control (NC). Pale spot with intensity lower than cut-off control.
4. Serum control (SC). Intense spot, always stained in presence of sample. Absence of spot indicates absence of sample.
5. Reference 1 (R1) corresponds to 300 rel.Units. Intense spot, always stained.
6. Reference 2 (R2) corresponds to 100 rel.Units. Weaker staining than R1, always stained.
7. Reference 3 (R3) corresponds to 60 rel.Units. Weaker staining than R2, always stained.

The test cannot be evaluated if one of the validity criteria listed in points 1. to 7. is not met.

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

## Interpretation of Results

Evaluation of the test has to be performed by using the Seramun SpotSight® plate mono / strip and in combination with the Seramun SeraSpot® scan software.

Results are interpreted as follows:

| Evaluation | Conditions   |
|------------|--|
| Positive   | Color intensity of one or more antigen spots > cut-off control |
| Negative   | Color intensity of the antigen spots ≤ cut-off control         |

## Performance Characteristics

### Precision

Samples with known antibody reactivity were examined in the SeraSpot® ANA-17 IgG and the rel.Units were determined. These values were then used to determine the coefficients of variation (CV) as a measure of the precision within a test run (intra-assay CV), between different test runs (inter-assay CV) and between different test lots (lot-to-lot CV).

| Antigen    | Intra-assay coefficient of variation       |        | Inter-assay coefficient of variation  |        | Lot-to-lot coefficient of variation   |        |
|------------|--|--------|---|--------|---|--------|
|            | $\bar{x}$ rel.Units<br>n=40                | CV [%] | $\bar{x}$ rel.Units<br>n=80   | CV [%] | $\bar{x}$ rel.Units<br>n=240  | CV [%] |
| Mi-2       | 92.4                                       | 10.1   | 96.7  | 14.6   | 99.9  | 14.1   |
| Ku         | 20.7                                       | 10.0   | 39.8  | 15.4   | 39.5  | 16.0   |
| U1-snRNP   | 64.9                                       | 8.9    | 55.8  | 9.0    | 56.3  | 15.5   |
| CENP-B     | 39.0                                       | 8.1    | 37.4  | 12.3   | 35.3  | 12.7   |
| Nucleosome | 43.6                                       | 11.9   | 48.5  | 19.3   | 48.9  | 24.2   |
| Histone    | 67.6                                       | 8.8    | 57.3  | 14.8   | 55.6  | 12.3   |
| dsDNA      | 63.3                                       | 7.8    | 72.9  | 11.2   | 72.4  | 11.7   |
| Jo-1       | 48.7                                       | 5.4    | 47.4  | 10.5   | 49.1  | 15.2   |
| Scl-70     | 37.1                                       | 11.6   | 40.4  | 15.9   | 42.3  | 16.4   |
| Sm         | 77.4                                       | 10.5   | 93.2  | 12.8   | 91.8  | 13.3   |
| P0         | 57.9                                       | 7.9    | 48.7  | 10.1   | 54.6  | 21.0   |
| PCNA       | 85.0                                       | 13.9   | 100.1   | 13.3   | 100.6   | 24.1   |
| La/SS-B    | 54.7                                       | 11.9   | 53.1  | 10.2   | 52.8  | 13.9   |
| Ro/SS-A 52 | 68.0                                       | 9.3    | 84.2  | 12.9   | 88.9  | 19.6   |
| Ro/SS-A 60 | 96.3                                       | 13.3   | 130.7   | 15.9   | 143.6   | 18.7   |
| AMA-M2     | 81.2                                       | 12.9   | 84.4  | 13.0   | 75.7  | 24.1   |
| PM-Scl     | 43.5                                       | 13.1   | 47.9  | 12.0   | 48.8  | 12.5   |
| Procedure  | 1 operator<br>40 determinations<br>1 batch |        | 5 operators<br>2 determinations<br>2 testings per day<br>20 days<br>1 batch |        | 5 operators<br>2 determinations<br>2 testings per day<br>20 days<br>3 batches |        |

### Determination of the Cut-off Value

Data from sensitivity and specificity studies compared to reference tests were used to determine the value for the cut-off control by ROC analysis (Receiver Operating Characteristics).

The cut-off range is determined specifically for each test.

## Interfering Substances

All tested substances do not have a significant impact on the test results even if present in elevated concentrations in the serum: 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.

## Sensitivity

Pre-characterized samples were analyzed to determine the sensitivity and specificity of SeraSpot® ANA-17 IgG in comparison with IgG reference tests. Samples with discrepant results were retested in a second reference test.

| Mi-2          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 9              | 9        |
|               | negative | 0              | 42       |
| Samples total |          | 9              | 51       |
| Sensitivity:  |          | 100 %          |          |

| Ku            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 5              | 0        |
|               | negative | 0              | 55       |
| Samples total |          | 5              | 55       |
| Sensitivity:  |          | 100 %          |          |

| U1-snRNP      |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 32             | 0        |
|               | negative | 3              | 12       |
| Samples total |          | 35             | 12       |
| Sensitivity:  |          | 91.4 %         |          |

| CENP-B        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 18             | 2        |
|               | negative | 0              | 92       |
| Samples total |          | 18             | 94       |
| Sensitivity:  |          | 100 %          |          |

| Nucleosome    |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 37             | 3        |
|               | negative | 9              | 54       |
| Samples total |          | 46             | 57       |
| Sensitivity:  |          | 80.4 %         |          |

| Histone       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 36             | 12       |
|               | negative | 2              | 53       |
| Samples total |          | 38             | 65       |
| Sensitivity:  |          | 94.7 %         |          |

| dsDNA         |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 70             | 8        |
|               | negative | 2              | 23       |
| Samples total |          | 72             | 31       |
| Sensitivity:  |          | 97.2 %         |          |

| Jo-1          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 14             | 3        |
|               | negative | 1              | 42       |
| Samples total |          | 15             | 45       |
| Sensitivity:  |          | 93.3 %         |          |

| Scl-70        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 59             | 3        |
|               | negative | 5              | 45       |
| Samples total |          | 64             | 48       |
| Sensitivity:  |          | 92.2 %         |          |

| Sm            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 8              | 1        |
|               | negative | 1              | 93       |
| Samples total |          | 9              | 94       |
| Sensitivity:  |          | 88.9 %         |          |

| P0            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 6              | 5        |
|               | negative | 0              | 92       |
| Samples total |          | 6              | 97       |
| Sensitivity:  |          | 100 %          |          |

| PCNA          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 4              | 0        |
|               | negative | 0              | 103      |
| Samples total |          | 4              | 103      |
| Sensitivity:  |          | 100 %          |          |

| La/SS-B       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 12             | 5        |
|               | negative | 3              | 83       |
| Samples total |          | 15             | 88       |
| Sensitivity:  |          | 80.0 %         |          |

| Ro/SS-A (52 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 27             | 0        |
|                  | negative | 0              | 76       |
| Samples total    |          | 27             | 76       |
| Sensitivity:     |          | 100 %          |          |

| Ro/SS-A (60 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 42             | 0        |
|                  | negative | 2              | 59       |
| Samples total    |          | 44             | 59       |
| Sensitivity:     |          | 95.5 %         |          |

| AMA-M2        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 15             | 4        |
|               | negative | 0              | 77       |
| Samples total |          | 15             | 81       |
| Sensitivity:  |          | 100 %          |          |

| PM/Sci        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 6              | 0        |
|               | negative | 1              | 53       |
| Samples total |          | 7              | 53       |
| Sensitivity:  |          | 85.7 %         |          |

### Specificity

Blood donor samples were examined for the specificity of SeraSpot® ANA-17 IgG. Samples with positive results were retested in a reference test.

| Mi-2          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 12       |
|               | negative | 0              | 188      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 94.0 %         |          |

| Ku            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 2        |
|               | negative | 0              | 198      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 99.0 %         |          |

| U1-snRNP      |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 18       |
|               | negative | 0              | 182      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 91.0 %         |          |

| CENP-B        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 2        |
|               | negative | 0              | 198      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 99.0 %         |          |

| Nucleosome    |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 11       |
|               | negative | 0              | 189      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 94.5 %         |          |

| Histone       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 3              | 10       |
|               | negative | 0              | 187      |
| Samples total |          | 3              | 197      |
| Specificity:  |          | 94.9 %         |          |

| dsDNA         |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 2        |
|               | negative | 0              | 198      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 99.0 %         |          |

| Jo-1          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 199      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 99.5 %         |          |

| Sci-70        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 7        |
|               | negative | 0              | 193      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 96.5 %         |          |

| Sm            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 199      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 99.5 %         |          |

| P0            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 199      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 99.5 %         |          |

| PCNA          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 200      |
| Samples total |          | 0              | 200      |
| Specificity:  |          | 100 %          |          |

| La/SS-B       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 7        |
|               | negative | 0              | 191      |
| Samples total |          | 2              | 198      |

Specificity: 96.5 %

| Ro/SS-A (52 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 2              | 2        |
|                  | negative | 0              | 196      |
| Samples total    |          | 2              | 198      |

Specificity: 99.0 %

| Ro/SS-A (60 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 0              | 1        |
|                  | negative | 0              | 199      |
| Samples total    |          | 0              | 200      |

Specificity: 99.5 %

| AMA-M2        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 11       |
|               | negative | 0              | 189      |
| Samples total |          | 0              | 200      |

Specificity: 94.5 %

| PM-Scl        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 6        |
|               | negative | 0              | 194      |
| Samples total |          | 0              | 200      |

Specificity: 97.0 %

### Cross Reactivity

Potential cross-reactive samples were tested in the SeraSpot® ANA-17 IgG and re-tested in a reference test. Samples with discrepant results were re-tested in a second reference test. Results obtained with the second reference test were used for the final status determination of the discrepant samples.

### Samples for patients with rheumatoid arthritis

A collection of 113 samples from patients suffering from rheumatoid arthritis with a positive anti-CCP (n=30) or RF (n=83) serology (reference test) were tested in the SeraSpot® ANA-17 IgG.

| Mi-2          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 9              | 7        |
|               | negative | 0              | 97       |
| Samples total |          | 9              | 104      |

Specificity: 93.3 %

| Ku            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 6              | 4        |
|               | negative | 0              | 103      |
| Samples total |          | 6              | 107      |

Specificity: 96.3 %

| U1-snRNP      |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 15       |
|               | negative | 0              | 98       |
| Samples total |          | 0              | 113      |

Specificity: 86.7 %

| CENP-B        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 1        |
|               | negative | 0              | 110      |
| Samples total |          | 2              | 111      |

Specificity: 99.1 %

| Nucleosome    |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 2        |
|               | negative | 2              | 107      |
| Samples total |          | 4              | 109      |

Specificity: 98.2 %

| Histone       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 9              | 14       |
|               | negative | 0              | 90       |
| Samples total |          | 9              | 104      |

Specificity: 86.5 %

| dsDNA         |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 3        |
|               | negative | 0              | 108      |
| Samples total |          | 2              | 111      |

Specificity: 97.3 %

| Jo-1          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 113      |
| Samples total |          | 0              | 113      |

Specificity: 100 %

| Sci-70        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 7              | 2        |
|               | negative | 0              | 104      |
| Samples total |          | 7              | 106      |

Specificity: 98.1 %

| Sm            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 112      |
| Samples total |          | 0              | 113      |
| Specificity:  |          | 99.1 %         |          |

| P0            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 1              | 1        |
|               | negative | 0              | 111      |
| Samples total |          | 1              | 112      |
| Specificity:  |          | 99.1 %         |          |

| PCNA          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 0        |
|               | negative | 0              | 111      |
| Samples total |          | 2              | 111      |
| Specificity:  |          | 100 %          |          |

| La/SS-B       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 7        |
|               | negative | 0              | 106      |
| Samples total |          | 0              | 113      |
| Specificity:  |          | 93.8 %         |          |

| Ro/SS-A (52 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 5              | 1        |
|                  | negative | 0              | 107      |
| Samples total    |          | 5              | 108      |
| Specificity:     |          | 99.1 %         |          |

| Ro/SS-A (60 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 2              | 1        |
|                  | negative | 0              | 110      |
| Samples total    |          | 2              | 111      |
| Specificity:     |          | 99.1 %         |          |

| AMA-M2        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 11             | 4        |
|               | negative | 0              | 98       |
| Samples total |          | 11             | 102      |
| Specificity:  |          | 96.1 %         |          |

| PM-Scl        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 0        |
|               | negative | 0              | 111      |
| Samples total |          | 2              | 111      |
| Specificity:  |          | 100 %          |          |

**Epstein-Barr-virus (EBV) antibody positive samples**

EBV antibody positive samples (reference test) were tested in SeraSpot® ANA-17 IgG.

| Mi-2          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 7        |
|               | negative | 0              | 15       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 68.2 %

| Ku            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 22       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| U1-snRNP      |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 22       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| CENP-B        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 2              | 0        |
|               | negative | 0              | 20       |
| Samples total |          | 2              | 20       |

Specificity: 100 %

| Nucleosome    |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 21       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 95.5 %

| Histone       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 5        |
|               | negative | 0              | 17       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 77.3 %

| dsDNA         |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 1              | 1        |
|               | negative | 0              | 20       |
| Samples total |          | 1              | 21       |

Specificity: 95.2 %

| Jo-1          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 22       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| Scl-70        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 21       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 95.5 %

| Sm            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 21       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 95.5 %

| P0            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 22       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| PCNA          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 22       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| La/SS-B       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 3        |
|               | negative | 0              | 19       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 86.4 %

| Ro/SS-A (52 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 0              | 0        |
|                  | negative | 0              | 22       |
| Samples total    |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| Ro/SS-A (60 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 0              | 0        |
|                  | negative | 0              | 22       |
| Samples total    |          | 0              | 22       |

Specificity: 100 %

| AMA-M2        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 3        |
|               | negative | 0              | 19       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 86.4 %

| PM-Scl        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 1        |
|               | negative | 0              | 21       |
| Samples total |          | 0              | 22       |

Specificity: 95.5 %

### Cytomegalovirus (CMV) antibody positive samples

CMV antibody positive samples (reference test) were tested in SeraSpot® ANA-17 IgG.

| Mi-2          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 4        |
|               | negative | 0              | 23       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 85.2 %

| Ku            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| U1-snRNP      |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 3        |
|               | negative | 0              | 24       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 88.9 %

| CENP-B        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| Nucleosome    |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 2        |
|               | negative | 0              | 25       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 92.6 %

| Histone       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 1              | 26       |
| Samples total |          | 1              | 26       |

Specificity: 100 %

| dsDNA         |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 1              | 1        |
|               | negative | 0              | 25       |
| Samples total |          | 1              | 26       |

Specificity: 96.2 %

| Jo-1          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| Scl-70        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 2        |
|               | negative | 0              | 25       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 92.6 %

| Sm            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| P0            |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| PCNA          |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| La/SS-B       |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 3        |
|               | negative | 0              | 24       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 88.9 %

| Ro/SS-A (52 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 0              | 1        |
|                  | negative | 0              | 26       |
| Samples total    |          | 0              | 27       |

Specificity: 96.3 %

| Ro/SS-A (60 kDa) |          | Reference test |          |
|------------------|----------|----------------|----------|
|                  |          | positive       | negative |
| SeraSpot®        | positive | 0              | 0        |
|                  | negative | 0              | 27       |
| Samples total    |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

| AMA-M2        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 2        |
|               | negative | 0              | 25       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 92.6 %

| PM-Scl        |          | Reference test |          |
|---------------|----------|----------------|----------|
|               |          | positive       | negative |
| SeraSpot®     | positive | 0              | 0        |
|               | negative | 0              | 27       |
| Samples total |          | 0              | 27       |

Specificity: 100 %

## Change History

| Version           | Section                     | Modifications   |
|-------------------|-----------------------------|---|
| 2023-01_v01_DE_EN | Entire document             | Use of new IFU template<br>Updating of the intended use<br>Conversion of the subsections<br>Insertion of safety instructions<br>Removal of pipetting scheme |
|                   | Important Information       | Insertion note on dealing with serious incidents  |
|                   | Entire document             | Updating of wording and correction of spelling mistakes   |
|                   | Performance Characteristics | Correction of performance characteristics (Sm, Jo-1)  |

## References

1. Conrad, K., Schößler, W., Hiepe, F., Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen Pabst Science Publishers Lengerich u.a. 2006, 2. Aufl.
2. Peter, J.B., Shoenfeld Y. (Eds), Autoantibodies Elsevier Amsterdam u.a. 1996
3. Tan, E.M., Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune disease and probes for cell biology, Adv. Immunol. 44, 1989: 93-151

