

# DNA-DOT

**REF** HM 015



Français

## DÉFINITION

Le coffret **DNA-DOT** constitue une méthode de détection immunoenzymatique qualitative des autoanticorps anti-ADN natif sur support membranaire.

## VALEUR DIAGNOSTIQUE

Les connectivites sont des maladies auto-immunes systémiques dont le classement repose sur des critères cliniques et biologiques. Le critère biologique s'appuie sur la mise en évidence des anticorps anti-nucléaires.

Parmi ceux-ci, les anticorps anti-ADN natif sont considérés comme le marqueur sérologique majeur du Lupus Erythémateux Systémique (LES). Leur spécificité et leur sensibilité leur confèrent une haute valeur diagnostique. A ce titre, ils font partie des critères cliniques et biologiques retenus en 1982 par l'American Rheumatism Association (ARA) pour le diagnostic du LES.

La détection des anticorps anti-ADN natif est particulièrement utile à deux niveaux : en tant qu'aide au diagnostic du LES et en tant que moyen de surveillance de l'évolution de la maladie.

Pour ce second point, les prélèvements répétés de sérum auprès du patient peuvent se révéler très informatifs dans la mesure où il existe une corrélation entre les anti-ADN natif et l'activité de la maladie : les poussées lupiques sont généralement précédées d'une élévation du taux d'anticorps anti-ADN natif, suivie par une chute brutale pendant l'aggravation (particulièrement dans les glomérulonéphrites).

D'autre part, les différents traitements ont des effets variables sur les taux d'anti-ADN natif et peuvent être adaptés par un suivi régulier de ces anticorps.

## PRINCIPE DU TEST

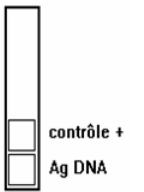
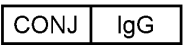


L'antigène est adsorbé sur un support membranaire constitué de 2 puits distincts.

- Dans un premier temps, la membrane est plongée dans un tube de réaction contenant l'échantillon à tester. S'il contient les anticorps recherchés, ceux-ci vont se fixer à l'antigène. Après incubation, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non fixés.
- Un conjugué, protéine A couplée à la phosphatase alcaline, viendra ensuite se fixer aux autoanticorps précédemment capturés. Après incubation, un deuxième lavage permet d'éliminer tout excès de conjugué.
- L'étape de chromogénèse est réalisée en utilisant un substrat insoluble de la phosphatase (BCIP/NBT). Au cours de celle-ci, apparaît un cercle de couleur bleue, traduisant la présence d'autoanticorps dans l'échantillon testé.

## ECHANTILLONS

- Le test est à effectuer sur sérum.
- Eviter d'utiliser des sérums lipémiques ou hémolysés, ainsi que des prélèvements congelés et décongelés plus d'une fois.
- Si le dosage n'est pas effectué immédiatement, les échantillons devront être conservés réfrigérés entre +2°C et +8°C pendant 5 jours maximum, sinon congelés à -20°C.
- Afin de limiter toutes fixations non spécifiques, il est conseillé de centrifuger et de filtrer les échantillons congelés depuis plus de 6 mois et troubles.

## COMPOSITION DU COFFRET

		HM015
Bandelettes réactives constituées de 2 puits distincts		25
	Antigène coaté : - ADN double brin extrait de thymus de veau <b>STRIP</b>	
Un flacon de Conjugué PAL (protéine A couplée à la phosphatase alcaline) A diluer		650µl
		
Un flacon de Substrat (BCIP/NBT) Prêt à l'emploi		18 ml
		
Un flacon de Tampon Phosphate-Tween (concentré 10x) A reconstituer en eau distillé		30 ml
		
Tubes de réaction (1,5ml)		100
Etiquettes autocollantes pour le rendu des résultats		25

## MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Pipettes de précision
- Chronomètre
- Eau distillée (reconstitution du PBS-Tween concentré)
- Papier absorbant (séchage des bandelettes)
- Portoir de 96 tubes de réaction (bmd, réf. HM501)

## STABILITÉ ET CONDITIONS DE CONSERVATION

- Les réactifs et les bandelettes doivent être conservés entre +2°C et +8°C dans leur conditionnement d'origine.
- Ne pas utiliser un coffret dont les dates de péremption sont dépassées.
- Après la première ouverture, conserver les bandelettes non utilisées à l'intérieur de la pochette plastique en présence du sachet déshydratant et les remettre immédiatement entre +2°C et +8°C.
- Remettre immédiatement entre +2°C et +8°C, les réactifs non utilisés.

## PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

S'assurer que les bandelettes soient bien égouttées après chaque lavage.

Les réactifs en solutions (excepté le substrat) contiennent comme agent de conservation, de l'azide de sodium à une concentration <0.1% (w/v) ou du ProClin® 300 à 0.02% (w/v). Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. L'azide de sodium peut former des mélanges explosifs lors de son élimination dans les canalisations de cuivre ou de plomb. Rincer abondamment lors de telles éliminations.

Le coffret **DNA-DOT** a été élaboré dans le respect des Directives européennes 67/548/CEE et 1999/45/CE en ce qui concerne la classification, l'emballage et l'étiquetage des préparations dangereuses.

**DNA-DOT** a été optimisé pour les conditions opératoires précisées dans cette notice. Le non-respect des dilutions, de la préparation des réactifs, du protocole ou la substitution d'un réactif par un autre produit peuvent affecter les performances finales du test.

## PRÉPARATION DU DOSAGE

Avant la manipulation, ramener tous les réactifs à température ambiante.

### 1. Préparation du Tampon de Dilution et de Lavage (TDL)

- Diluer le tampon Phosphate-Tween concentré au 1/10 en eau distillée.
- Durée de conservation : 3 mois entre +2°C et +8°C.

### 2. Préparation des échantillons

- Identifier une bandelette par échantillon.
- Identifier 3 tubes de réaction par échantillon. Les numéroter de 1 à 3 :
  - ≅ tube 1 : incubation de l'échantillon
  - ≅ tube 2 : incubation du conjugué
  - ≅ tube 3 : incubation du substrat
- Distribuer 600µl de tampon TDL dans les tubes 1 et 2.
- Préparer un tube supplémentaire réservé aux deux premiers lavages et distribuer 600µl de tampon TDL

#### Remarques :

- ❖ *Le substrat est sensible à la lumière. Il nécessite d'être distribué au moment de son utilisation dans les tubes 4 extemporanément.*
- ❖ *Certaines conditions environnementales comme la température peuvent influencer le résultat final. Pour des températures > +30°C, il est recommandé d'être vigilant sur la cohérence des résultats obtenus.*

- ❖ *Certaines conditions opératoires peuvent influencer l'intensité de la couleur bleue et conduire à une atténuation de celle-ci lorsque :*
  - *le temps d'agitation à chaque lavage est inférieur à 1 minute*
  - *la membrane se colle à la paroi du tube durant les différentes incubations.*
  - *L'homogénéisation, en tampon, de l'échantillon et du conjugué est incomplète.*
- ❖ *Certaines conditions environnementales comme une température supérieure à +30°C peuvent entraîner des résultats faussement positifs.*

## INTERPRÉTATION DES RESULTATS

### 1. Critères de Validation de la Manipulation :

- Le contrôle positif doit présenter un cercle de couleur bleue avec un contour nettement délimité.

### 2. Lecture des bandelettes :

Pour une interprétation aisée et fiable, vérifier que les bandelettes soient totalement sèches.

ASPECTS DES PUIITS	RESULTATS
Aucun puits nettement cerclé	Absence d'autoanticorps NEGATIF
Présence d'un cercle distinct et bien délimité dont la coloration est nuancée du clair au sombre	Présence d'autoanticorps POSITIF

*Tous puits présentant un cercle peu discernable, sans contour net, doit être contrôlé sur un second prélèvement quelques semaines plus tard et interprétés en fonction d'examen complémentaires et du contexte clinique.*

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

bmd propose des contrôles multiparamétriques qui peuvent être testés en parallèle (Immunotrol I, Réf. HM036 et Immunotrol IV, Réf. HM051). Ils renferment des anticorps humain anti-dsDNA. Ils sont à tester de façon identique à celle des échantillons.

## CARACTÉRISTIQUES ET PERFORMANCES DU TEST

### 1. INDICES DE LA VALEUR DIAGNOSTIQUE PAR RAPPORT A UNE AUTRE MÉTHODE

Le test **DNA-DOT** a été comparé au test DNA-LISA (réf. HM002) commercialisé par bmd.

L'étude a porté sur 189 échantillons provenant de patients souffrant de pathologies associées à la présence d'anticorps anti-ADN natif et sur des échantillons provenant d'individus sains ou atteints d'autres maladies autoimmunes.

Tout résultat discordant entre ces deux méthodes a été contrôlé par immunofluorescence indirecte sur *Crithidia luciliae* à l'aide du coffret 48 tests (réf. ME0248) commercialisé par bmd.

	DNA-LISA		
	Positifs	Négatifs	
DNA-DOT	Positifs	68	3
	Négatifs	1	117

### Contrôles par immunofluorescence

- 1 échantillon négatif en DOT et positif en ELISA : trouvé négatif.
- 3 échantillons positifs en DOT et négatifs en ELISA : 2 trouvés négatifs, 1 trouvé positif.

### Indices de la valeur diagnostique du test DNA-DOT :

par rapport au test DNA-LISA (valeur seuil de 10UA/ml):

Sensibilité relative	Spécificité relative	Concordance	Valeur prédictive positive	Valeur prédictive négative
98,5%	97,5%	97,9%	95,8%	99,2%

### 2. EXACTITUDE

Estimée par un test de recouvrement :

Principe: échantillon négatif surchargé par des quantités croissantes d'un échantillon positif.

Titre DNA-LISA de l'échantillon positif: 46UA/ml.

% sérum négatif	% sérum positif	DNA-DOT
100	0	absence de cercle
90	10	absence de cercle
80	20	halo non cerclé
70	30	clair cerclé
60	40	clair cerclé
50	50	sombre cerclé

### 3. REPRODUCTIBILITÉ

Estimée sur 3 échantillons: positif, faiblement positif et négatif.

Titre DNA-LISA	n	INTRA-ESSAI		INTER-ESSAIS	
		Aspect des puits DNA-DOT	n	Aspect des puits DNA-DOT	n
46U/ml	5	sombre cerclé	5	sombre cerclé	5
17U/ml	5	clair cerclé	5	clair cerclé	5
<7U/ml	5	absence de cercle	5	absence de cercle	5

### 4. COMPARAISON DES PERFORMANCES DU COFFRET DNA-DOT, NOUVELLE VERSION (PROTOCOLE COURT), A CELLES DE L'ANCIEN COFFRET DNA-DOT (PROTOCOLE LONG)

L'étude a porté sur 94 échantillons provenant de patients souffrant de pathologies associées à la présence d'anticorps anti-ADN natif mais également d'individus sains ou atteints d'autres maladies autoimmunes.

DNA-DOT (protocole long)		DNA-DOT (protocole court)	
		Positifs	Négatifs
		Positifs	51
Négatifs	1	41	

Indices de la valeur diagnostique du test DNA-DOT (protocole court) :

par rapport au test DNA-DOT (protocole long)

Sensibilité relative	Spécificité relative	Concordance
98,1%	97,6%	97,8%

### BIBLIOGRAPHIE

AHMAN A et al.

Molecular expression systems for anti-DNA antibodies - 1 - 2. Lupus 2002, 11, 824-832, 833-842.

CONRAD K. et al. Autoantibodies – Diagnostic, pathogenic and prognostic relevance.

Clin. and Exp. Rheumatol. 1997 ;15, 457-465

HOLLINGSWORTH P.N. et al. Antinuclear antibodies

In: Peter JB and Shoenfeld Y. Autoantibodies. Elsevier Science, 1996, Amsterdam.74-90.

HOMBURGER H.A. Cascade testing for autoantibodies in connective tissue disease.

Mayo Clin. Proc., 1995, 70, 183-184.

ISENBERG et al.

Clinical laboratory assays for measuring anti-dsDNA antibodies. Were are we now?

Lupus 2002, 11, 797-800.

RAHMAN A et al.

Anti-DNA antibodies – structure and function.

Lupus 2002, 11, 776-779.

RAVIRAJAN CT et al.

An analysis of clinical disease activity and nephritis associated serum autoantibody profiles in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study.

Rheumatology 2001, 40, 1405-1412.










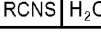

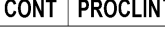
SMEENK RJ et al.

dsDNA autoantibodies.

In: Peter JB and Shoenfeld Y. Autoantibodies.

Elsevier Science, 1996, Amsterdam.227-234.

### LISTE DES SYMBOLES

	Référence produit
	Numéro de lot
	Nombre de tests
	Test unitaire
	Pour le diagnostic <i>in vitro</i> uniquement
	Date d'expiration
	A conserver entre +2-+30°C
	Lire les instructions d'utilisation
	Conforme à la réglementation CE
	A reconstituer ou diluer avec de l'eau
	Contient de l'azide de sodium
	Contient du Proclin

**SCHEMA RECAPITULATIF DU MODE OPERATOIRE**

	<b>OPERATIONS A EFFECTUER</b>	<b>TEMPS D'INCUBATION</b>
<b>INCUBATION DES SERUMS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ajouter 20 µl d'échantillon dans le tube 1 contenant le tampon TDL.</li> <li>- Y plonger la bandelette identifiée</li> <li>- Déclencher le chronomètre.</li> <li>- Agiter* manuellement la bandelette 20 fois (sur une durée totale de 15s)</li> <li>- Laisser ensuite incuber <u>sans agiter</u>.</li> </ul>	10 minutes à T.A
Pendant l'incubation des échantillons, distribuer 20µl de conjugué dans le tube 2 contenant le TDL		
<b>LAVAGE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plonger la bandelette dans le tube de lavage contenant du TDL.</li> <li>- Agiter* manuellement.</li> <li>- Eliminer le tampon résiduel en égouttant la bandelette sur un papier absorbant.</li> </ul>	1 minute à T.A
<b>INCUBATION DU CONJUGUE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plonger la bandelette dans le tube 2.</li> <li>- Déclencher le chronomètre.</li> <li>- Agiter* manuellement la bandelette 20 fois (sur une durée totale de 15s)</li> <li>- Laisser ensuite incuber <u>sans agiter</u>.</li> </ul>	10 minutes à T.A
En fin d'incubation du conjugué, distribuer 600µl de substrat dans le tube 3		
<b>LAVAGE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plonger la bandelette dans le tube de lavage contenant du TDL.</li> <li>- Agiter* manuellement.</li> <li>- Eliminer le tampon résiduel en égouttant la bandelette sur un papier absorbant.</li> </ul>	1 minute à T.A
<b>INCUBATION DU SUBSTRAT</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Placer la bandelette dans le tube 3.</li> <li>- Déclencher le chronomètre.</li> <li>- Agiter* manuellement la bandelette 20 fois (sur une durée totale de 15s)</li> <li>- Laisser ensuite incuber <u>sans agiter</u>.</li> </ul>	5 minutes à T.A
<b>LAVAGE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Laver la bandelette sous l'eau du robinet.</li> </ul>	
<b>SECHAGE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eliminer l'eau résiduelle en déposant la bandelette sur un papier absorbant et <b>laisser sécher complètement</b> avant l'interprétation du résultat.</li> </ul>	environ 30 minutes à T.A

T.A : Température Ambiante entre +18°C et + 25°C. \* : Les agitations doivent être lentes et verticales.

**BioMédical Diagnostics SA**

**Siège social**  
Actipole 25  
4 bld de Beaubourg  
77435 Marne la Vallée Cx2  
France

Tél : 33 1 64 62 10 12  
Fax : 33 1 64 62 09 66

E-mail : [support@bmd-net.com](mailto:support@bmd-net.com)  
Internet : [www.bmd-net.com](http://www.bmd-net.com)



# DNA-DOT

REF HM 015



English

## DEFINITION

The DNA-DOT kit is a qualitative enzyme immunoassay (EIA) for the detection of anti-dsDNA antibodies.

## DIAGNOSTIC VALUE

Connective diseases are systemic auto-immune diseases. Their classification is based upon clinical and biological data. Biological criteria is based on the detection of anti-nuclear antibodies.

Among them, anti-dsDNA (ds: double strength) antibodies are recognized as the major serologic marker of Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Their specificity and their sensitivity give them a high diagnostic value. Therefore they are a part of the clinical and biological criteria established in 1982 by the American Rheumatism Association (ARA) for the diagnosis of the SLE.

The detection of anti-dsDNA antibodies is particularly useful in two different ways : as an aid to the diagnosis of SLE and as a tool to monitor the course of the disease.

For the second purpose repeated serum sampling of individual patients can be very informative about the clinical course of the disease because a relationship exists between anti-DNA and diseases activity : flares of SLE are generally preceded by a rise in anti-dsDNA levels, followed by a steep drop during the exacerbation (particularly in nephritis).

Furthermore different treatments of patients have varying influences on anti-dsDNA levels and can be adapted by a regular follow-up of these antibodies.

## ASSAY PRINCIPLE

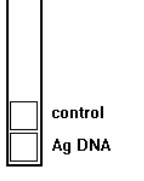
The antigens are coated on distinct membranes on the assay strip.

- First, the assay strip is incubated in a reaction tube containing the diluted sample of the patient. If this sample contains the antibodies, these antibodies will recognize and bind to the corresponding antigen. After incubation, a first wash step removes all of the unbound proteins.
- An alkaline phosphatase labeled protein A conjugate binds to the captured antibodies. The excess of unbound conjugate is removed by a second wash step.
- The bound conjugate is visualised with an insoluble substrate for the phosphatase enzyme (BCIP/NBT). This will give rise to a blue colored circle, confirming the presence of auto-antibodies in the sample tested.

## SAMPLES COLLECTION AND HANDLING

- The test is performed on serum.
- Lipemic sera should be avoided, as well as samples which have been frozen and defrosted more than once.
- If the test is not run immediately, the samples should be stored at +2°C/+8°C for a maximum of 5 days, for longer storage, frozen undiluted samples at -20°C.
- To avoid non-specific binding, it is recommended to centrifuge and filter the cloudy samples or samples frozen for more than 6 months.

## REAGENTS

	HM015
Assay strips	25
 <p>control Ag DNA</p> <p>Antigen coated : - dsDNA purified from calf thymus</p> <p><b>STRIP</b></p>	
1 vial of PAL Conjugate (Phosphatase alkaline labeled protein A) To be diluted	650µL
CONJ IgG	
1 vial of Substrate (BCIP/NBT) Ready to use	18mL
SUBS BCIP-NBT	
1 vial of Phosphate-Tween buffer (concentrate 10x) To be diluted in distilled water	30mL
BUF WASH 10x	
Reaction tubes (1,5mL)	100
Self-stick labels for returned results	25

## MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipettes
- Timer
- Distilled water (to dilute the concentrated Phosphate-Tween buffer)
- Adsorbent towels (to blot dry the assay strip)
- Support for 96 reaction tubes (bmd, cat. HM501)

## STABILITY AND STORAGE

- Store reagents and assay strips at +2°C/+8°C in their own package.
- Do not use kits beyond the expiration date.
- Store unused strips into their plastic bag with the desiccant.
- Store all components immediately after use again at +2°C/+8°C.

## PRECAUTIONS

Be sure that the strips are dry after each wash.

Reagents in solution (except for substrate buffer) contain less of 0.1% (w/v) sodium azide and 0.02% (w/v) of Proclin® 300. Do not eat and avoid contact with skin and eyes. Azide can form explosive mixtures in copper or lead piping. Rinse thoroughly after flushing.

**DNA-DOT** has been developed according CE Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations.

**DNA-DOT** has been optimized for the use as describe in this procedure. Do not substitute other manufacturer's reagents. Dilution or adulteration of these reagents may also affect the performance of the test. Close adherence to the test procedure will assure optimal performance.

## SETUP

All reagents must be at room temperature before use.

### 1. Preparation of the wash and dilution buffer

- Dilute 10 times the concentrated Phosphate-Tween buffer in distilled water.
- Storage period: 3 months at +2°C/+8°C

### 2. Preparation of samples

- Mark one strip per sample.
- Mark 3 reaction tubes per sample and number from 1 to 3:
  - ≈ tube 1: sample incubation.
  - ≈ tube 2: conjugate incubation.
  - ≈ tube 3: substrate incubation.
- Dispense 600µL of wash and dilution buffer in tubes 1 and 2.
- Mark another microtube reserved for the two first washing steps and dispenses 600µL of wash and dilution buffer.

### Remarks and precautions:

- ❖ *The substrate is light sensitive. It requires to be dispense immediately at the time of his use in the tubes 3.*
- ❖ *Certain environmental conditions as the temperature may influence the final result. For temperatures > +30°C, it is recommended to be vigilant on the coherence of the results obtained.*
- ❖ *Certain operational conditions may influence the intensity of the blue color and should therefore be avoided:*
  - *the agitation time in each wash step is less than a minute*
  - *the membrane sticking to the wall of the vessel during incubation steps.*
  - *incomplete mixing of sample and conjugate*

## INTERPRETATION OF RESULTS

### 1. Validation criterion for the manipulation:

- The positive control should give a blue colored circle with a well defined outline.

### 2. Reading of the strips:

In order to interpret correctly make sure that the strips are completely dry.

APPEARANCE OF THE WELL	RESULTS
no circle	absence of auto-antibodies NEGATIVE
presence of a circle of which the staining is variable from bright to dark	presence of auto-antibodies POSITIVE

*Each membrane showing a difficult to distinguish circle should be controlled with a second blood sample, drawn a few weeks later. The interpretation of the results should be done in relation to other examinations and in the clinical context.*

## QUALITY CONTROL

bmd offers a multiparametric quality controls (Immunotrol I, Cat. No HM036 et Immunotrol IV, Cat.No HM051). It contains anti-native DNA antibodies; handle in the same way as samples.

## CHARACTERISTICS AND PERFORMANCE OF THE TEST

### 1. INDICATION OF THE DIAGNOSTIC VALUE IN COMPARISON WITH AN OTHER METHOD

The **DNA-DOT** has been compared with the DNA-LISA (Cat. HM002) commercialised by bmd.

The study is based on 189 serum samples of patients suffering of pathologies associated with the presence of anti-native DNA antibodies, healthy individuals and patients suffering of other autoimmune diseases.

All the discordant results between the two methods are been controlled by indirect immunofluorescence on *Crithidia luciliae*.

	DNA-LISA	
	Positive	Negative
DNA-DOT	68	3
	1	117

### Controlled by immunofluorescence

- 1 sample negative on the DOT and positive by ELISA : negative on IF
- 3 samples positive on the dot and negative by ELISA : 2 were found negative on IF and 1 was found positive.

### Indication of the diagnostic value of the DNA-DOT :

in comparison with the DNA-LISA (cut off value of 10UA/mL) :

Relative sensibility	Relative specificity	Concordance	Positive predictive value	Negative predictive value
98.5%	97.5%	97.9%	95.8%	99.2%

### 2. ACCURACY

Estimated by a test of recovery :

Principle : negative sample with growing quantities of a positive sample.

Titre of the positive sample on DNA-LISA : 46UA/mL.

% negative serum	% positive serum	DNA-DOT
100	0	no circle
90	10	no circle
80	20	a no circled halo
70	30	bright circle
60	40	bright circle
50	50	dark circle

### 3. REPRODUCIBILITY

Estimated on 3 samples : positive, weak positive and negative.

DNA-LISA Titre	INTRA-ASSAY		INTER-ASSAYS	
	n	DNA-DOT appearance	n	DNA-DOT appearance
46U/mL	5	dark circle	5	dark circle
17U/mL	5	bright circle	5	bright circle
<7U/mL	5	no circle	5	no circle

### 4. PERFORMANCE COMPARISON OF DNA-DOT, NEW VERSION (SHORT PROCEDURE) TO DNA.-DOT, PREVIOUS VERSION (LONG PROCEDURE)

The study is based on 94 serum samples of patients suffering of pathologies associated with the presence of anti-native DNA antibodies, healthy individuals and patients suffering of other autoimmune diseases.

DNA-DOT (long procedure)	DNA-DOT (short procedure)		
		Positive	Negative
	Positive	51	1
Negative	1	41	

Indication of the diagnostic value of the DNA-DOT (short procedure):










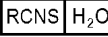

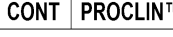
in comparison with the DNA-DOT (long procedure) :

Relative sensibility	Relative specificity	Concordance
98.1%	97.6%	97.8%

### BIBLIOGRAPHY

- AHMAN A et al.  
Molecular expression systems for anti-DNA antibodies - 1 – 2.  
Lupus 2002, 11, 824-832, 833-842.
- CONRAD K. et al. Autoantibodies – Diagnostic, pathogenic and prognostic relevance.  
Clin. and Exp. Rheumatol. 1997 ;15, 457-465
- HOLLINGSWORTH P.N. et al. Antinuclear antibodies  
In: Peter JB and Shoenfeld Y. Autoantibodies. Elsevier Science, 1996, Amsterdam.74-90.
- HOMBURGER H.A. Cascade testing for autoantibodies in connective tissue disease.  
Mayo Clin. Proc., 1995, 70, 183-184.
- ISENBERG et al.  
Clinical laboratory assays for measuring anti-dsDNA antibodies. Were are we now?  
Lupus 2002, 11, 797-800.
- RAHMAN A et al.  
Anti-DNA antibodies – structure and function.  
Lupus 2002, 11, 776-779.
- RAVIRAJAN CT et al.  
An analysis of clinical disease activity and nephritis associated serum autoantibody profiles in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study.  
Rheumatology 2001, 40, 1405-1412.
- SMEENK RJ et al.  
dsDNA autoantibodies.  
In: Peter JB and Shoenfeld Y. Autoantibodies. Elsevier Science, 1996, Amsterdam.227-234.

### SYMBOLS USED

	Catalog number
	Batch code
	Number of tests
	Rapid test
	In vitro diagnostic device
	Use by
	Storage temperature limitation
	Read instructions for use
	EC Declaration of Conformity
	Reconstitute with water
	Contains sodium azide
	Contains Proclin

**SUMMARY OF METHOD**

	<b>OPERATIONS STEPS</b>	<b>INCUBATION TIME</b>
<b>INCUBATION OF SAMPLES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Add 20µL sample to tube 1 containing wash and dilution buffer.</li> <li>- Put in the identified strip.</li> <li>- Start the alarm.</li> <li>- Move* the strip manually 20 times up and down (during 15s)</li> <li>- Then incubate <u>without shaking</u>.</li> </ul>	10 minutes at R.T
During sample incubation, add 20µL conjugate to tube 2 containing wash and dilution buffer		
<b>WASH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Put the strip in the corresponding wash tube with wash and dilution buffer.</li> <li>- Move* manually.</li> <li>- Take the strip out of the tube and remove residual buffer by blotting the strip with an adsorbent towel.</li> </ul>	1 minute at R.T
<b>INCUBATION WITH CONJUGATE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Put the strip in tube 2.</li> <li>- Start the alarm.</li> <li>- Move* the strip manually 20 times up and down (during 15s)</li> <li>- Then incubate <u>without shaking</u>.</li> </ul>	10 minutes at R.T
At the end of the conjugate incubation, dispense 600µL of substrate in tube 3		
<b>WASH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Put the strip in the corresponding wash tube with wash and dilution buffer.</li> <li>- Move* manually.</li> <li>- Take the strip out of the tube and remove residual buffer by blotting the strip with an adsorbent towel.</li> </ul>	1 minute at R.T
<b>INCUBATION OF SUBSTRATE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Put the strip in tube 3.</li> <li>- Start the alarm.</li> <li>- Move* the strip manually 20 times up and down (during 15s)</li> <li>- Then incubate <u>without shaking</u>.</li> </ul>	5 minutes at R.T
<b>WASH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wash the strip under tap water.</li> </ul>	
<b>DRY</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Remove water by blotting the strip with an adsorbent towel and <b>let dry completely</b> before reading the result.</li> </ul>	about 30 minutes at R.T

R.T : Room Temperature between +18°C and + 25°C. \* : Up and down agitations should be slow.

**BioMédical Diagnostics SA**

**Office**  
 Actipole 25  
 4 bld de Beaubourg  
 77435 Marne la Vallée Cx2  
 France

Tel : 33 1 64 62 10 12  
 Fax : 33 1 64 62 09 66

E-mail : [support@bmd-net.com](mailto:support@bmd-net.com)  
 Internet : [www.bmd-net.com](http://www.bmd-net.com)

