AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® PR3 sensitive

Ref 3302

CE | Σ 96 | 2°C – 8°C | IVD | eIFU WWW.AESKU.COM

Instrukcja obsługi

Spis treści

1 Przeznaczenie 1
2 Zastosowanie kliniczne i zasada działania oznaczenia 1
3 Zawartość zestawu 2
4 Przechowywanie i okres trwałości 2
5 Środki ostrożności dotyczące stosowania 3
6 Pobieranie próbek, postępowanie z nimi i ich przechowywanie 4
7 Procedura oznaczenia 4
8 Interpretacja ilościowa i jakościowa 7
9 Dane techniczne 8
10 Dane dotyczące skuteczności 8
11 Utylizacja 9
12 Literatura 10
13 Symbole regulacyjne 11

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Przeznaczenie

***AESKULISA®* PR3 sensitive** to enzymatyczne oznaczenie immunochemiczne fazy stałej, w którym wykorzystano wysoce oczyszczoną natywną ludzką proteinazę 3 (PR3) z ludzkich granulocytów obojętnochłonnych do ilościowego i jakościowego wykrywania przeciwciał przeciwko proteinazie 3 w surowicy ludzkiej. Przeciwciała przeciwko PR3 rozpoznają swoiście konformacyjne epitopy dostępne tylko na natywnej PR3.

Oznaczenie wspomaga diagnostykę różnicową autoimmunologicznego zapalenia naczyń.

2 Zastosowanie kliniczne i zasada działania oznaczenia

Przeciwciała przeciwko proteinazie 3 (PR3) należą do grupy przeciwciał przeciwko cytoplazmie neutrofilów (ang. anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA), które są skierowane przeciwko cytoplazmatycznym składnikom monocytów i granulocytów obojętnochłonnych. Uznaną metodą wykrywania ANCA jest test metodą immunofluorescencji pośredniej neutrofilów utrwalonych etanolem. Okazało się, że niektóre ANCA (zwane C-ANCA) dają cytoplazmatyczny wzorzec fluorescencyjny, podczas gdy inne dają wzorzec okołojądrowy (P-ANCA). Ponieważ oba wzorce mogą występować dla wielu antygenów, immunofluorescencja nie jest odpowiednia do satysfakcjonującej diagnostyki różnicowej zapalenia naczyń; dlatego każdy test immunofluorescencyjny (ang. immunofluorescence test, IFT) należy weryfikować swoistymi testami ELISA.

PR3 jest proteazą serynową z ziaren azurofilnych (lizosomów) neutrofili o masie cząsteczkowej wynoszącej 29 kDa. Białko kationowe wykazuje aktywność proteolityczną w stosunku do elastyny, hemoglobiny i kolagenu VII. Ponadto PR3 wspiera aktywację płytek krwi przez katepsynę G i inaktywuje inhibitor C1.

ANCA są ważnymi markerami w diagnostyce różnicowej autoimmunologicznego zapalenia naczyń. Autoprzeciwciała przeciwko PR3 są swoistym markerem serologicznym ziarniniakowatości Wegenera (ZW). Chociaż etiologia i patogeneza są nadal niejasne, uważa się, że autoprzeciwciała przeciwko PR3 odgrywają aktywną rolę w patogenezie ZW. Miana przeciwciał przeciwko PR3 są silnie związane z aktywnością choroby i hamują aktywność proteolityczną PR3.

Zasada działania testu

Próbki surowicy rozcieńczone w stosunku 1:101 inkubuje się na mikropłytkach pokrytych swoistym antygenem. Przeciwciała pacjenta, jeśli są obecne w próbce, wiążą się z antygenem. Frakcja niezwiązana jest wymywana w następnym kroku. Następnie przeciwciała przeciwko ludzkim immunoglobulinom sprzężone z peroksydazą chrzanową (koniugaty) są inkubowane i reagują na mikropłytkach z kompleksem antygen-przeciwciało powstałym z próbek. Niezwiązany koniugat jest wymywany w następnym kroku. Dodanie substratu TMB powoduje enzymatyczną reakcję kolorymetryczną (powstaje kolor niebieski), która jest zatrzymywana przez rozcieńczony kwas (kolor zmienia się na żółty). Intensywność zabarwienia chromogenu jest funkcją ilości koniugatu związanego z kompleksem antygen-przeciwciało, która jest proporcjonalna do początkowego stężenia odpowiednich przeciwciał w próbce pacjenta.

3 Zawartość zestawu

DO REKONSTYTUCJI				
Pozycja	Ilość	Kolor korka	Kolor roztworu	Opis / Zawartość
Bufor próbki (5x)	1 x 20 ml	Biały	Żółty	Koncentrat 5x Tris, chlorek sodu (NaCl), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Bufor do płukania (50x)	1 x 20 ml	Biały	Zielony	Koncentrat 50x Tris, NaCl, Tween 20, azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
GOTOWE DO UŻYCIA				
Pozycja	Ilość	Kolor korka	Kolor roztworu	Opis / Zawartość
Kontrola ujemna	1 x 1,5 ml	Zielony	Bezbarwny	Materiał kontrolny (rozcieńczony), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Kontrola dodatnia	1 x 1,5 ml	Czerwony	Żółty	Materiał kontrolny (rozcieńczony), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Kalibrator punktu odcięcia	1 x 1,5 ml	Niebieski	Żółty	Materiał kalibracyjny (rozcieńczony), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Kalibratory	6 x 1,5 ml	Biały	Żółty *	Stężenie każdego kalibratora: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Materiał kalibracyjny (rozcieńczony), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Koniugat, IgG	1 x 15 ml	Niebieski	Niebieski	Zawiera: Immunoglobuliny sprzężone z peroksydazą chrzanową, albumina surowicy bydlęcej (BSA)
Substrat TMB	1 x 15 ml	Czarny	Bezbarwny	Stabilizowana tetrametylobenzydyna i nadtlenek wodoru (TMB/H_2O_2)
Roztwór zatrzymujący	1 x 15 ml	Biały	Bezbarwny	1M kwas solny
Płytka mikrotitracyjna	Paski ze studzienkami 12 x 8	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY	Z odrywanymi mikrostudzienkami. Informacje dotyczące powłoki podano w punkcie 1.

* Intensywność koloru wzrasta ze stężeniem

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOŁĄCZONE
Czytnik płytek mikrotitracyjnych z filtrem odczytu 450 nm i zalecany filtr referencyjny 620 nm (600–690 nm). Szkło laboratoryjne (cylinder 100–1000 ml), probówki do rozcieńczeń. Mieszalnik wirowy, pipety precyzyjne (10, 100, 200, 500, 1000 µl) lub multipipeta regulowana (100–1000 µl). Urządzenie do mycia mikropłytek (pipeta wielokrotna lub wielokanałowa 300 µl lub system automatyczny), bibuła absorpcyjna. Nasze testy są przeznaczone do stosowania z wodą oczyszczoną zgodnie z definicją Farmakopei Stanów Zjednoczonych (USP 26 – NF 21) i Farmakopei Europejskiej (Eur.Ph. wyd. 4).

4 Przechowywanie i okres trwałości

Przechowywać wszystkie odczynniki i mikropłytkę w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F, w oryginalnych pojemnikach. Po przygotowaniu rekonstytuowane roztwory zachowują stabilność w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F przez 1 miesiąc. Odczynniki i mikropłytkę należy zużyć w terminie ważności wskazanym na każdym elemencie. Unikać ekspozycji roztworu TMB na intensywne działanie światła. Przechowywać mikropłytki w przeznaczonej do tego folii, łącznie ze środkiem osuszającym, szczelnie zamknięte.

5 Środki ostrożności dotyczące stosowania

5.1 Dane dotyczące zagrożeń dla zdrowia

PRODUKT JEST PRZEZNACZONY WYŁĄCZNIE DO DIAGNOSTYKI IN VITRO. W związku z tym test przy użyciu tego zestawu może wykonać tylko wykwalifikowany personel specjalnie przeszkolony w zakresie metod diagnostyki in vitro. Chociaż ten produkt nie jest uważany za szczególnie toksyczny ani niebezpieczny w warunkach użytkowania zgodnie z przeznaczeniem, w celu zapewnienia maksymalnego bezpieczeństwa należy zapoznać się z poniższymi informacjami:

Zalecenia i środki ostrożności

Ten zestaw zawiera potencjalnie niebezpieczne elementy. Chociaż odczynniki zestawu nie są sklasyfikowane jako drażniące dla oczu i skóry, zalecamy unikanie kontaktu z oczami i skórą oraz noszenie jednorazowych rękawiczek.

OSTRZEŻENIE! Kalibratory, kontrole i bufory zawierają azydek sodu (NaN_3) jako środek konserwujący. NaN_3 może być toksyczny w przypadku spożycia lub wchłonięcia przez skórę lub oczy. NaN_3 może reagować z ołowiem i miedzią w rurach, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po wyrzuceniu spłukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku. Należy zapoznać się z procedurami dekontaminacji określonymi przez CDC lub innymi wytycznymi lokalnymi/krajowymi.

Podczas manipulowania zestawem nie wolno palić tytoniu, jeść ani pić. Nie pipetować ustami.

Cały biologiczny materiał źródłowy użyty w niektórych odczynnikach tego zestawu został przetestowany zatwierdzonymi metodami i okazał się ujemny pod kątem HbsAg, wirusowego zapalenia wątroby typu C i HIV 1. Żaden test nie może jednak zagwarantować całkowitej nieobecności czynników wirusowych w takim materiale. W związku z tym należy obchodzić się z nim tak, jakby był zakaźny, zgodnie z wymogami krajowymi.

Zestaw zawiera materiał pochodzenia zwierzęcego, jak określono w spisie zawartości, postępować zgodnie z wymogami krajowymi.

5.2 Ogólne wskazówki dotyczące użytkowania

Jeśli informacje o produkcie, w tym etykieta, są wadliwe lub nieprawidłowe, należy skontaktować się z producentem lub dostawcą zestawu testowego.

Nie mieszać ani nie zastępować kontroli, kalibratorów, koniugatów ani mikropłytek o różnych numerach partii. Może to prowadzić do różnic w wynikach.

Odczekać przed użyciem, aż wszystkie elementy osiągną temperaturę pokojową (20–32 °C/68–89,6 °F), dobrze wymieszać i postępować zgodnie z zalecanym schematem inkubacji w celu optymalnego przeprowadzenia testu.

Inkubacja: W systemach zautomatyzowanych zalecamy wykonanie testu w temperaturze 30 °C/86 °F.

Nigdy nie wystawiać elementów na działanie temperatury wyższej niż 37 °C/98,6 °F.

Roztwór substratu pipetować tylko fabrycznie nowymi końcówkami. Chronić odczynnik przed światłem. Nigdy nie pipetować koniugatu końcówkami używanymi wcześniej z innymi odczynnikami.

Jednoznaczna diagnoza kliniczna nie powinna opierać się wyłącznie na wynikach wykonanego testu, ale powinna być postawiona przez lekarza po ocenie wszystkich wyników klinicznych i laboratoryjnych. Diagnoza musi być zweryfikowana przy użyciu różnych metod diagnostycznych.

6 Pobieranie próbek, postępowanie z nimi i ich przechowywanie

Najlepiej używać świeżo pobranych próbek surowicy. Krew należy pobrać zgodnie z wymogami krajowymi. Nie używać próbek zażółconych, lipemicznych, zanieczyszczonych bakteriami ani takich, które uległy hemolizie. Surowice zawierające cząstki należy oczyścić przez wirowanie z niską prędkością (<1000 x g). Próbki krwi należy pobierać do czystych, suchych i pustych probówek.

Po oddzieleniu próbki surowicy należy zużyć w ciągu pierwszych 8 godzin lub przechowywać szczelnie zamknięte w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F do 48 godzin bądź zamrożone w temperaturze -20 °C/-4 °F przez dłuższy czas. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4)

7 Procedura oznaczenia

7.1 Przygotowania przed rozpoczęciem

Rozcieńczyć stężone odczynniki:

Rozcieńczyć stężony bufor próbki w stosunku 1:5 wodą destylowaną (np. 20 ml plus 80 ml).

Rozcieńczyć stężony bufor do płukania w stosunku 1:50 wodą destylowaną (np. 20 ml plus 980 ml).

Aby uniknąć pomyłek, zalecamy oznaczenie korków różnych kalibratorów.

Próbki:

Rozcieńczyć próbki surowicy w stosunku 1:101 buforem próbki (1x),

np. 1000 µl buforu próbki (1x) + 10 µl surowicy. Dobrze wymieszać!

Płukanie:

Przygotować 20 ml rozcieńczonego buforu do płukania (1x) na 8 studzienek lub 200 ml na 96 studzienek,

np. 4 ml koncentratu plus 196 ml wody destylowanej.

Automatyczne płukanie:

Należy wziąć pod uwagę nadmiarowe objętości wymagane do ustawienia urządzenia i objętość martwą pipety automatycznej.

Mycie ręczne:

Usunąć płyn ze studzienek, odwracając płytkę. Energicznie popukać w ramkę mikrostudzienek skierowaną studzienkami w dół nad czystą bibułą absorpcyjną. Odmierzyć pipetą 300 µl rozcieńczonego buforu do płukania do każdej studzienki, odczekać 20 sekund. Powtórzyć całą procedurę jeszcze dwa razy.

Mikropłytki:

Obliczyć liczbę studzienek wymaganych do testu. Usunąć nieużywane studzienki z ramki, umieścić je w dołączonej plastikowej torbie wraz ze środkiem osuszającym i przechowywać szczelnie zamknięte (2–8 °C/35,6–46,4 °F).

7.2 Schemat pipetowania

Zalecamy pipetowanie kalibratorów, kontroli i próbek w następujący sposób:

Do interpretacji *ILOŚCIOWEJ*

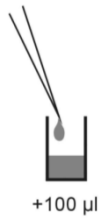
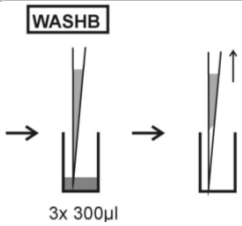
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

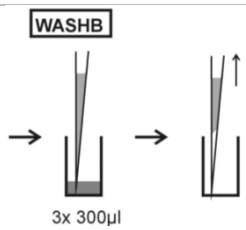
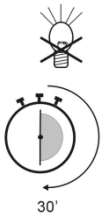
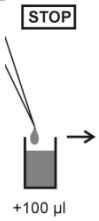
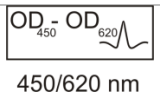
Do interpretacji *JAKOŚCIOWEJ*

	1	2	3	4...
A	NC	P2		
B	NC	P2		
C	CC	P3		
D	CC	P3		
E	PC	…		
F	PC	…		
G	P1	…		
H	P1	…		

CalA: kalibrator A
CalB: kalibrator B
CalC: kalibrator C
CalD: kalibrator D
CalE: kalibrator E
CalF: kalibrator F
PC: kontrola dodatnia
NC: kontrola ujemna
CC: kalibrator punktu odcięcia
P1: próbka pacjenta 1
P2: próbka pacjenta 2
P3: próbka pacjenta 3

7.3 Kroki testu

Krok	*Opis*	
1.	Przed rozpoczęciem pipetowania upewnić się, że przeprowadzono przygotowania, o których mowa w punkcie 7.1 powyżej.	
2.	Wykonać następujące kroki w zależności od pożądanych wyników interpretacji ilościowej/jakościowej:	
	KONTROLE I PRÓBKI	
3.		Do wyznaczonych studzienek, jak opisano w punkcie 7.2 powyżej, odmierzyć pipetą 100 µl: a. kalibratorów (od CAL.A do CAL.F) dla interpretacji *ILOŚCIOWEJ* albo b. kalibratora punktu odcięcia (CC) dla interpretacji *JAKOŚCIOWEJ* i 100 µl każdego z poniższych: • kontroli ujemnej (NC) i kontroli dodatniej (PC) oraz • rozcieńczonej surowicy pobranej od pacjenta (P1, P2…)
4.		Inkubować przez 30 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F.
5.		Płukać 3x, używając 300 µl buforu do płukania (rozcieńczonego w stosunku 1:50).

	KONIUGAT	
6.		Odmierzyć pipetą 100 µl koniugatu do każdej studzienki.
7.		Inkubować przez 30 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F.
8.		Płukać 3x, używając 300 µl buforu do płukania (rozcieńczonego w stosunku 1:50).
	SUBSTRAT	
9.		Odmierzyć pipetą 100 µl substratu TMB do każdej studzienki.
10.		Inkubować przez 30 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F, chroniąc przed intensywnym światłem.
	STOP	
11.		Odmierzyć pipetą 100 µl roztworu zatrzymującego do każdej studzienki, zachowując tę samą kolejność, w jakiej pipetowany był substrat.
12.		Inkubować przez minimum 5 minut.
13.		Ostrożnie wstrząsać płytkę przez 5 sekund.
14.		Odczytać absorbancję przy 450 nm (zalecane 450/620 nm) w ciągu 30 minut.

8 Interpretacja ilościowa i jakościowa

Dla **interpretacji ilościowej** ustalić krzywą standardową, wykreślając zależność **gęstości optycznej** (**ang. optical density, OD) każdego kalibratora (oś y)** od odpowiednich wartości stężeń w U/ml (oś x). Aby uzyskać najlepsze wyniki, zalecamy współrzędne log/lin i dopasowanie 4-parametrowe. Z OD każdej próbki odczytać odpowiednie stężenia przeciwciał wyrażone w U/ml.

Zakres standardowy	Zakres niejednoznaczny	Wyniki dodatnie
<12 U/ml	12–18 U/ml	>18 U/ml

Przykład krzywej standardowej

NIE używać tego przykładu do interpretacji wyniku pacjenta

Kalibratory IgG	OD 450/620 nm	% CV (zmienność)
0 U/ml	0,040	0,7
3 U/ml	0,175	2,7
10 U/ml	0,350	1,8
30 U/ml	0,680	3,4
100 U/ml	1,220	0,4
300 U/ml	2,130	0,8

Przykład obliczenia

Pacjent	Replikat (OD)	Średnia (OD)	Wynik (U/ml)
P 01	0,557/0,572	0,565	23,0
P 02	0,998/1,045	1,022	63,8

Próbki, dla których wynik przekracza górną granicę zakresu kalibratora, powinny być zgłaszane jako >Max. Należy je odpowiednio rozcieńczyć i poddać ponownej analizie. Próbki, dla których wynik jest niższy od dolnej granicy zakresu kalibratora, powinny być zgłaszane jako <Min.
Dane dotyczące poszczególnych partii znajdują się w załączonej ulotce dotyczącej kontroli jakości. Laboratoria medyczne mogą przeprowadzać wewnętrzną kontrolę jakości, korzystając z własnych kontroli lub własnych surowic zbiorczych, zgodnie z przepisami krajowymi.

Każde laboratorium powinno ustalić swój własny zakres standardowy w oparciu o własne techniki, kontrole, sprzęt i populację pacjentów, zgodnie z własnymi ustalonymi procedurami.

Jeśli wartości dla kontroli nie spełniają kryteriów, wynik jest nieważny i test należy powtórzyć.

Należy sprawdzić następujące kwestie techniczne: daty ważności (przygotowanych) odczynników, warunki przechowywania, pipety, urządzenia, fotometr, warunki inkubacji i metody płukania.

Jeśli dla testowanych elementów wykazano nieprawidłowe wartości lub odchylenia lub jeśli kryteria walidacji nie są spełnione z niewyjaśnionych powodów, należy skontaktować się z producentem lub dostawcą zestawu testowego.

Do celów **interpretacji jakościowej** odczytać gęstość optyczną kalibratora punktu odcięcia i próbek pacjenta. Porównać OD próbek pacjenta z OD kalibratora punktu odcięcia. Do interpretacji jakościowej zalecamy przyjęcie, że wyniki dla surowic w zakresie 20% wokół wartości punktu odcięcia są niejednoznaczne. Wszystkie próbki o wyższych OD są uważane za dodatnie, próbki o niższych OD są uważane za ujemne.

Ujemna:		**OD próbki pacjenta**	**< 0,8 x OD punktu odcięcia**			**1,2 x OD**
Niejednoznaczna:	**0,8 x**	**OD punktu odcięcia**	**≤ OD próbki pacjenta**	**≤**		**punktu**
Dodatnia:		**OD próbki pacjenta**	**> 1,2 x OD punktu odcięcia**			**odcięcia**

9 Dane techniczne

Materiał próbki:	surowica
Objętość próbki:	10 µl próbki rozcieńczonej w stosunku 1:101 z 1x buforem próbki
Całkowity czas inkubacji:	90 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F
Zakres kalibracji:	0–300 U/ml
Czułość analityczna:	1,39 U/ml
Przechowywanie:	w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F; używać wyłącznie oryginalnych fiolek.
Liczba oznaczeń:	96 testów

10 Dane dotyczące skuteczności

10.1 Zakres standardowy

Surowice od zdrowych dawców badano przy użyciu oznaczenia ***AESKULISA®* PR3 sensitive** i uzyskano następujący rozkład:

Liczba próbek	ujemne	graniczne	dodatnie
200	175 (87,5%)	18 (9%)	7 (3,5%)

Zalecamy również, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres standardowy.

10.2 Precyzja

Precyzję wyników testów uzyskanych przy użyciu oznaczenia ***AESKULISA®* PR3 sensitive**, nr kat. 3302, oceniono poprzez określenie precyzji w obrębie oznaczenia i pomiędzy oznaczeniami, a także zmienności między partiami poprzez analizę wielu próbek o różnej aktywności przeciwciał.

Identyfikator próbki	Precyzja w obrębie oznaczenia		Precyzja pomiędzy oznaczeniami		Precyzja pomiędzy seriami	
	Średnia (U/ml)	CV	Średnia (U/ml)	CV	Średnia (U/ml)	CV
Próbka 1	11,3	10,9%	11,3	13,1%	12,5	0,1%
Próbka 2	21,6	7,0%	21,6	8,9%	23,2	8,8%
Próbka 3	28,8	10,6%	28,8	12,5%	30,8	16,3%
Próbka 4	92,2	8,1%	92,2	8,7%	104,2	16,1%
Próbka 5	213,6	10,0%	213,6	10,2%	236,7	18,0%
Próbka 6	331,7	5,9%	331,7	6,5%	375,5	17,7%

10.3 Czułość i swoistość

Czułość analityczna

Czułość analityczną oceniono poprzez wielokrotną analizę bufora próbki i próbek o niskiej liczbie wyników dodatnich oraz obliczenie granicy wykrywalności (ang. limit of detection, LoD). Dla oznaczenia ***AESKULISA®* PR3 sensitive**, nr kat. 3302, określono **LoD na poziomie 1,39 U/ml**.

10.4 Liniowość

Trzy surowice obejmujące cały zakres testowy rozcieńczano seryjnie ujemną próbką surowicy. Zmierzone i oczekiwane wartości oddzielnych rozcieńczeń wykorzystano do obliczenia regresji liniowej. Na podstawie wyników testu liniowości dla oznaczenia ***AESKULISA®* PR3 sensitive** wyznaczono zakres pomiarowy 3–300 U/ml.

10.5 Kalibracja

Ze względu na brak międzynarodowego odniesienia kalibracyjnego oznaczenie to jest kalibrowane w jednostkach arbitralnych (U/ml).

11 Utylizacja

Przestrzegać odpowiednich wymogów przewidzianych przepisami!

12 Literatura

1. Falk, RJ Jennette JC (1988). *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis.* N Engl, J Med 318: 1651-1657.

2. Baslund B and Wiik A (1994). *Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) and vasculitis.* Clin Rev Allergy; 12: 297-304.

3. Bosch X, Guilabert A, and Font J (2006). *Antineutrophil cytoplasmic antibodies.* Lancet; 368: 404-418.

4. Savige J, Gillis D, Benson et al. (1999). I*nternational consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Am J Clin Pathol; 111: 507–13.

5. Campanelli D, Detmers PA, Nathan CF and Gabay J E (1990). *Azurocidin and a homologous serine protease from neutrophils. Differential antimicrobial and proteolytic properties.* J Clin Invest; 85: 904-915.

6. Kao RC, Wehner NG, Skubitz KM, Gray BH and Hoidal JR (1988). *Proteinase 3. A distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters.* J Clin Invest; 82: 1963-1973.

7. Rao NV, Wehner NG, Marshall BC, Gray WR, Gray BH and Hoidal JR (1991). *Characterization of proteinase-3 (PR-3), a neutrophil serine proteinase. Structural and functional properties*. J Biol Chem; 266: 9540-9548.

8. Reinhold-Keller E, BeugeN, LatzaU, de Groot K, Rudert H, Nolle B, Heller M and Gross WL (2000). *An interdisciplinary approach to the care of patients with Wegener's granulomatosis: long-term outcome in 155 patients.* Arthritis Rheum; 43: 1021-1032.

9. Aries PM, Csernok E and Gross (2007). *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for proteinase 3.* in Autoantibodies (ed. Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL) (2007) 2nd Edition 119-126

10. **Lothar Thomas:** Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik., 8. Auflage, TH Books

11. **CLSI Guideline GP44-A4:** Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests

13 Symbole regulacyjne

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	- Do stosowania w diagnostyce in vitro.
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	- Numer katalogowy
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	- Partia
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	- Unikalny identyfikator urządzenia
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	- Deklaracja zgodności WE
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	- 96 testów
eIFU WWW.AESKU.COM	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	- Patrz elektroniczne instrukcje użytkowania
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	- Termin ważności
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Przechowywać w temperaturze 2–8 °C (35,6–46,4 °F)
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	- Producent
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	- Kalibrator punktu odcięcia
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	- Kontrola dodatnia
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	- Kontrola ujemna
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	- Kalibrator
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	- Koniugat
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	- Powlekana płytka mikrotitracyjna
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	- Bufor do płukania
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	- Bufor substratu
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	- Roztwór zatrzymujący
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	- Bufor próbki