AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® MPO

Ref 3303

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

Gebrauchsanweisung

Inhaltsverzeichnis

1 Zweckbestimmung 1
2 Klinische Anwendung und Testprinzip 1
3 KIT Bestandteile 2
4 Lagerung und Haltbarkeit 2
5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen 3
6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung 4
7 Testdurchführung 4
8 Quantitative und qualitative Auswertung 7
9 Technische Daten 8
10 Testdaten/Testcharakteristik 8
11 Literatur 11
12 Regulatorische Symbole 12

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 Zweckbestimmung

Der ***AESKULISA®*** **MPO** Elisa ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay mit hochgereinigter nativer Myeloperoxidase (MPO) aus humanen neutrophilen Granulozyten. Er erlaubt die quantitative und qualitative Bestimmung von Antikörpern gegen MPO in humanem Serum. Anti-MPO Antikörper erkennen spezifisch konformationelle Epitope, welche nur im nativen MPO vorhanden oder zugänglich sind. Die Bestimmung dieser Antikörper ist für die Differentialdiagnose autoimmuner Vaskulitiden von Bedeutung.

2 Klinische Anwendung und Testprinzip

Antikörper gegen Myeloperoxidase (MPO) gehören zu der Gruppe der Anti-Neutrophilen cytoplasmatischen Antikörper (ANCA), die spezifisch gegen Komponenten des Cytoplasmas von neutrophilen Granulozyten und Monozyten gerichtet sind. Der Nachweis erfolgte ursprünglich durch einen indirekten Immunfluoreszenz-Test (IFT) an Ethanol-fixierten Neutrophilen. Aufgrund der beobachteten unterschiedlichen Fluoreszenzmuster erfolgte eine Einteilung der ANCAs in cANCA mit cytoplamatischem Fluoreszenzmuster und pANCA mit perinukleärem Fluoreszenzmuster. Da beide Fluoreszenzmuster Reaktionen gegen viele verschiedene Antigene darstellen, erweist sich der IFT als wenig geeignet für die Differentialdiagnose von Vaskulitiden; das Ergebnis eines IFT sollte daher durch eine spezifische Bestimmung der Antikörper im ELISA verifiziert werden.

cANCA sind hauptsächlich gegen Proteinase 3 gerichtet. Als Hauptantigen der pANCAs wurde die Myeloperoxidase identifiziert. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass die perinukleäre Fluoreszenz der pANCAs nicht allein auf einer Reaktion gegen MPO sondern auch gegen verschiedene andere Antigene wie z.B. Elastase, Cathepsin G, Lactoferrin und Lysozym beruht.

MPO ist ein (grün gefärbtes) Enzym mit einem Molekulargewicht von etwa 140 kDa, das in der primären Granula von Neutrophilen lokalisiert ist. Aufgrund seiner stark kationischen Ladung wandert das MPO in Ethanol-fixierten Granulozyten zu den negativ geladenen Kernstrukturen (Kernmembran, DNA) und erzeugt ein perinukleäres Fluoreszenz-Muster.

ANCAs wurden als bedeutende Marker bei der Diffentialdiagnose von autoimmunen Vaskulitiden beschrieben. Autoantikörper gegen MPO treten bei der idiopathischen und Vaskulitis-assoziierten rasch progressiven Glomerulonephritis auf. Sie werden zu 70 % bei der mikroskopischen Polyangiitis und zu 5-50% bei dem Churg-Strauss-Syndrom gefunden.

Testprinzip

Die 1:101 verdünnten Serumproben werden in den Kavitäten, welche mit dem spezifischen Antigen beschichtet sind, inkubiert. Hierbei binden spezifische Antikörper aus dem Patientenserum, wenn vorhanden, an das Antigen auf der Platte; ungebundene Serumkomponenten werden im folgenden Waschschritt weggewaschen. Anschließend werden anti-Human Immunoglobuline, die mit Meerrettich-Peroxidase markiert sind (Konjugat), zugegeben. Während einer Inkubation binden diese an den zuvor gebildeten Antigen-Antikörper-Komplex, nicht gebundene Immunglobuline werden im folgenden Waschschritt entfernt. Der Nachweis gebundener Antikörper erfolgt mit einer enzymatischen Farbreaktion (blau) des Substrates, die mit verdünnter Säure abgestoppt wird (Farb-umschlag nach gelb). Die Intensität der Farbentwicklung des Chromogens ist abhängig von der an den Antigen-Antikörper-Komplex gebundenen Konjugatmenge und somit direkt proportional zur Antikörperkonzentration im Serum.

3 KIT Bestandteile

Vor Gebrauch verdünnen				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschluss	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Probenpuffer 5x	1 x 20ml	Weiß	Gelb	5 fach konzentriert Tris, NaCl, BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Waschpuffer 50x	1 x 20ml	Weiß	Grün	50 fach konzentriert Tris, NaCl, Tween 20, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Gebrauchsfertig:				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschluss	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Negativ Kontrolle	1 x 1,5ml	Grün	Farblos	Humanes Serum (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Positiv Kontrolle	1 x 1,5ml	Rot	Gelb	Humanes Serum (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1%
Cut-off Kalibrator	1 x 1,5ml	Blau	Gelb	Humanes Serum (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Kalibratoren	6 x 1,5ml	Weiß	Gelb*	Konzentration der Kalibratoren: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Humanes Serum (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Konjugat, IgG	1 x 15ml	Blau	Blau	Anti-human Immunoglobulin markiert mit Meerrettichperoxidase, BSA
TMB Substrat	1 x 15ml	Schwarz	Farblos	Stabilisiertes TMB/H2O2
Stop Lösung	1 x 15ml	Weiß	Farblos	1M Salzsäure
Mikrowell-Streifen	12 x 8 well strips	N/A	N/A	brechbar. Beschichtung siehe Punkt 1.
*Farbintensität mit Konzentration steigend				
Erforderliche Materialien, nicht im Kit enthalten:				
Mikrotiterplatten-Photometer mit optischem Filter für 450 nm, optional mit Referenzwellenlänge von 620nm (600-690 nm). Glaswaren (Zylinder 100-1000ml), Röhrchen für Verdünnungen, Vortexer, Mikropipetten (10, 100, 200, 500, 1000 µl) oder einstellbare Multipipette. Wascheinheit für Mikrotiterplatten (300µl Multipipette oder Mehrkanalpipette oder automatisches Waschsystem), Filterpapier. Unsere Tests wurden für die Verwendung mit gereinigtem Wasser (purified water) nach der Definition der U.S. Pharmakopöe (USP 26 - NF 21) und der Europäischen Pharmakopöe entwickelt (Eur. Ph. 4te Ed.).				

4 Lagerung und Haltbarkeit

Die Lagerung der Kitreagenzien und der Mikrotiterplatte soll bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F in den Originalflaschen erfolgen. Verdünnte Lösungen sind bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F einen Monat haltbar. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Verfallene Kitbestandteile nicht benutzen! Eine starke Lichteinwirkung auf die Substratlösung TMB ist zu vermeiden. Mikrotiterplatten stets in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel verschlossen aufbewahren.

5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

5.1 Gesundheitsrisiko

Dieses Produkt darf ausschliesslich zur IN VITRO DIAGNOSTIK verwendet werden.

Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders folgendes eingehalten werden:

Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen

Da einzelne Komponenten des Kits potentiell gefährdende Reagenzien enthalten, können diese eine Reizung der Augen und der Haut hervorrufen.

ACHTUNG: Kalibratoren, Kontrollen und Puffer enthalten Natriumazid (NaN_3) als Konservierungsstoff. NaN_3 kann toxisch wirken, sofern es eingenommen oder über die Haut oder Augen adsorbiert wird. NaN_3 kann mit Blei oder Kupferrohren hochexplosive Metallazide bilden. Zur Vermeidung von Azid-Anreicherungen sollte bei der Entsorgung dieser Lösungen bitte mit einer großen Menge Wasser nachgespült werden. Bitte die Vorgaben örtlicher/ nationaler Vorschriften zur Dekontamination beachten.

Während des Arbeitens mit dem Kit nicht essen, trinken oder rauchen. Nicht mit dem Mund pipettieren, Einmal-Handschuhe tragen.

Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien humanen Ursprungs (Kontrollen und Kalibratoren) erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HbsAg), Hepatitis C und HIV 1 und 2 als negativ. Dennoch ist bei Produkten menschlichen Ursprungs nie mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass die genannten, andere oder ggf. noch nicht bekannte oder diagnostizierte Krankheitserreger enthalten sind. Daher sind Kontrollen, Kalibratoren sowie Patientenseren als potentiell infektiös einzustufen und entsprechend der nationalen Rechtslage zu handhaben. Das Produkt enthält Bestandteile tierischen Ursprungs wie in der Tabelle der Bestandteile angegeben: Beim Umgang sind entsprechende nationale Richtlinien zu beachten.

5.2 Allgemeine Hinweise

Sollten Produktinformationen, einschliesslich Labeling falsch oder inkorrekt sein, kontaktieren sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Einzelne Kontrollen, Kalibratoren und Konjugate oder Mikrotiterplatten verschiedener Chargen sollten nicht ausgetauscht werden, da dies zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann.

Alle Kit-Komponenten vor Testbeginn auf Raumtemperatur (20-32 °C/68-89,6 °F) bringen und gut durchmischen. Das vorgeschriebene Protokoll zur Durchführung des Tests ist unbedingt einzuhalten.

Inkubation:Für eine Testabarbeitung mit Automaten empfehlen wir eine Temperatur von 30 °C/86 °F.

Setzen Sie die einzelnen Kit-Komponenten niemals höheren Temperaturen als 37 °C/98,6 °F aus.

Die Substrat-Lösung immer mit verkaufsneuen Pipettenspitzen pipettieren, um Kontaminationen zu vermeiden. Intensiven Lichtkontakt der Substratlösung vermeiden. Konjugat-Lösung niemals mit Pipettenspitzen pipettieren, welche mit anderen Reagenzien kontaminiert sind.

Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht alleine auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern vom Arzt unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde erstellt werden. Die Diagnose sollte unbedingt mit verschiedenen diagnostischen Methoden bestätigt werden.

6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung

Die Verwendung frischer Serumproben wird empfohlen. Die Blutentnahme hat nach der nationalen Rechtslage zu erfolgen.Ikterische, lipämische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Serumproben nicht verwenden. Bei trüben Proben die Partikel niedrig abzentrifugieren (<1000 x g). Blutproben in saubere, trockene und leere Röhrchen aufnehmen.

Nach der Gewinnung sollten Serenproben innerhalb von 8 h verwendet werden, bzw. verschlossen für 48h bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F aufbewahrt werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtig sollten die Proben -20 °C/-4 °F tiefgefroren werden.

7 Testdurchführung

7.1 Vorbereitung

Verdünnung konzentrierter Reagenzien:

Konzentrierten Probenpuffer 1:5 mit destilliertem Wasser verdünnen (z.B. 20 ml plus 80 ml).

Konzentrierten Waschpuffer 1:50 mit destilliertem Wasser verdünnen (z.B. 20 ml plus 980 ml).

Um Fehler zu vermeiden empfehlen wir die Deckel der Kalibratoren und Kontrollen zu kennzeichnen.

Verdünnung der Patientenproben:

Serumproben 1:101 mit verdünntem Probenpuffer (1x) verdünnen und mischen, z.B. 1000 µl Probenpuffer + 10 µl Serum.

Waschen:

Es werden 20 ml verdünnten Waschpuffers (1x) pro 8 Kavitäten oder 200 ml pro 96 Kavitäten benötigt z.B. 4 ml Konzentrat plus 196 ml destilliertes Wasser.

Automatisiertes Waschen:

Für die Inbetriebnahme des Instrumentes und das Totvolumen sind zusätzliche Waschpuffermengen zu berücksichtigen.

Manuelles Waschen:

Flüssigkeit sorgfältig durch Ausklopfen der Platte auf Filterpapier entfernen. 300 µl verdünnten Waschpuffer in jede Kavität pipettieren, 20 Sekunden warten. Den Vorgang noch zweimal wiederholen.

Mikrotiterplatte:

Unbenutzte Kavitäten entfernen und fest verschlossen in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel kühl lagern (2-8 °C/35,6-46,4 °F).

7.2 Pipettierschema

Wir empfehlen, die Kalibratoren, Kontrollen und Proben wie folgt zu pipettieren:

Zur *quantitativen* Auswertung

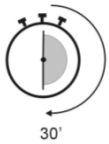
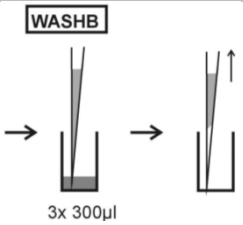
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

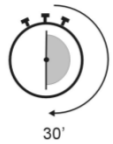
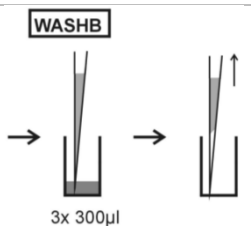
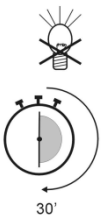
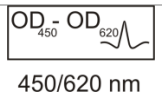
Zur *qualitativen* Auswertung

	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: positiv-Controle
NC: negativ-Controle
CC: Cut-off Kalibrator
P1: Patient 1
P2: Patient 2
P3: Patient 3

7.3 Arbeitsschritte

Schritt	*Beschreibung*
1.	Stellen sie sicher das die Vorbereitungen aus Kapitel 7.1 vor Beginn durchgeführt worden sind
2.	Verwenden sie die folgenden Schritte entsprechend der beabsichtigten quantitative / qualitative Interpretation der Ergebnisse
	Kalibratoren, Kontrollen & Proben
3.	 Pipettieren sie jeweils 100µl in die vorgesehenen Kavitäten entsprechend Kapitel 7.2: a. Kalibratoren (CAL.A to CAL.F) zur QUANTITATIVEN oder b. Cut-Off Kalibrator (CC) zur QUALITATIVEN Interpretation Und 100µl von jedem der folgenden Bestandteile • Negativ Kontrolle (NC) und Positiv Kontrolle (PC) und • Verdünnte Patienten Proben (P1, P2,…)
4.	 30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F inkubieren.
5.	 3 mal mit jeweils 300 µl 1:50 verdünntem Waschpuffer waschen.

	KONJUGAT	
6.		100 µl Enzymkonjugatlösung in jede Kavität geben.
7.		30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F inkubieren.
8.		3 mal mit jeweils 300 µl 1:50 verdünntem Waschpuffer waschen.
	SUBSTRAT	
9.		100 µl TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
10.		30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F inkubieren, vor intensiver Lichteinstrahlung schützen.
	STOP	
11.		100 µl Stopplösung pro Kavität in der Reihenfolge der Substratzugabe pipettieren.
12.		Mindestens 5 Minuten inkubieren.
13.		Platte vorsichtig 5 Sekunden schütteln.
14.		Optische Dichte bei 450 nm innerhalb von 30 Minuten messen (empfehlenswert bei 450/620 nm).

8 Quantitative und qualitative Auswertung

Die **quantitative Auswertung** erfolgt anhand einer Standardkurve, bei der die optische Dichte der Kalibratoren (y-Achse) gegen die Konzentration in U/ml (x-Achse) aufgetragen wird. Eine log/lin Auftragung und ein 4-Parameter-Fit wird zur Auswertung empfohlen. Anhand der Kurve wird aus der optischen Dichte der Probe die Antikörper-Konzentration in U/ml ermittelt.

Normalbereich	Grenzwertig	Positive Ergebnisse
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Auswertungsbeispiel

Dieses Beispiel darf nicht zur Interpretation der Patientenresultate benutzt werden !

Kalibratoren IgG	OD 450/620 nm	CV % (Varianz)
0 U/ml	0.055	0,1
3 U/ml	0.195	0,7
10 U/ml	0.400	2,4
30 U/ml	0.785	0,5
100 U/ml	1.440	1,7
300 U/ml	2.300	0,9

Berechnungsbeispiel

Patient	Replikat (OD)	Mittelwert (OD)	Ergebnis (U/ml)
P 01	0,794/0,792	0.793	32,1
P 02	1,345/1,321	1.333	84,5

Proben die über dem höchsten Kalibratorwert liegen sollten als >Max berichtet werden. Sie sollten entsprechend verdünnt und neu bewertet werden. Proben niedriger als der Meßbereich sollten als <Min berichtet werden.

Chargen spezifische Daten entnehmen Sie bitte dem beiliegenden Kontrollzertifikat. Medizinische Laboratorien sollten In-house Qualitätskontrollen mit eigenen Kontrollen und/oder Poolseren nach nationalem Reglement durchführen.

Es wird empfohlen, daß sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Sollten die Werte der Kontrollen nicht die Validierungskriterien erfüllen, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Die folgenden Technischen Fakten sollten überprüft werden: Haltbarkeitsdaten der Reagenzien, Lagerbedingungen, Pipetten, verwendete Geräte, Photometer, Inkubationsbedingungen und Waschmethode.

Sollten die getesteten Proben ungewöhnliche Werte oder Abweichungen zeigen, oder werden die Validierungskriterien aus unerfindlichen Gründen nicht erfüllt kontaktieren sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Die **qualitative Auswertung** erfolgt anhand des Vergleichs der optischen Dichte der Patientenprobe mit der optischen Dichte des Cut-off Kalibrators. Liegt die optische Dichte der Patientenprobe im Bereich von +/-20% des Cut-off Kalibrators, so ist diese als grenzwertig zu bewerten. Bei einer höheren OD ist die Patientenprobe als positiv, bei einer niedrigeren OD als negativ einzustufen.

Negativ:		**OD patient**	**<**	**0,8 x OD cut-off**		
Grenzwertig:	**0,8 x**	**OD cut-off**	**≤**	**OD patient**	**≤**	**1,2 x OD cut-off**
Positiv:		**OD patient**	**>**	**1,2 x OD cut-off**		

9 Technische Daten

Probenmaterial:	Serum
Probenvolumen:	10 µl Serum für 1:101 Verdünnung mit 1x Probenpuffer
Gesamt-Inkubationszeit:	90 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F
Messbereich:	0-300 U/ml
Analytische Sensitivität:	1,47 U/ml
Lagerung:	bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F in Originalflaschen.
Zahl der Bestimmungen:	96 Tests

10 Testdaten/Testcharakteristik

10.1 Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze von 1,47 U/ml wurde durch 60-maliges Testen von Probenpuffer mit ***AESKULISA®* MPO** und durch 8-maliges Testen 8 schwach negativer Proben ermittelt.

10.2 Spezifität und Sensitivität

Die Mikrotiterplatten sind mit nativer humaner Myeloperoxidase beschichtet. Antikörper gegen MPO stehen in Verbindung mit idiopathischer oder Vaskulitis-assoziierter nekrotisierender halbmondförmiger Glomerulonephritis und werden häufig bei ca. 60 % der Patienten mit Mikroskopischer Polyangiitis, 10-20 % der Patienten mit Wegenerscher Granulomatose und bei 30-50 % der Patienten mit Churg-Strauss-Syndrom nachgewiesen.[3,10]

151 Seren von Patienten mit Wegenerscher Granulomatose, Mikroskopischer Polyangiitis und anderen Autoimmunerkrankungen wurden mit ***AESKULISA®* MPO** und einem Vergleichsprodukt getestet, davon lagen 79 Seren im Messbereich des Assays und wurden für eine Vergleichsstudie mit einem Vergleichsprodukt herangezogen.

	Vergleichsprodukt				
***AESKULISA®* MPO**		POS	grenzwertig	NEG	Summe
	POS	39	4	0	43
	Neg	0	7	29	36
	Summe	39	11	29	79

		95 % C.I.
Prozentuale Gesamtübereinstimmung*	94,9 %	87,7 % bis 98,0 %
Positive prozentuale Übereinstimmung	100 %	91,0 % bis 100 %
Negative prozentuale Übereinstimmung*	90,0 %	77,0 % bis 96,0 %

* Ein grenzwertiges Ergebnis beim Vergleichsprodukt wurde in dieser Kalkulation als negativ berücksichtigt.

Für eine klinische Vergleichsstudie wurden nur Proben, die eine deutliche Anzahl Antikörper gegen MPO (Glomerulonephritis, Mikroskopische Polyangiitis) enthalten sollten, für die Berechnung der diagnostischen Sensitivität/Spezifität als positiv berücksichtigt, alle anderen Diagnosen wurden als "negativ" gewertet, selbst wenn Antikörper gegen MPO vorlagen (vollständige Daten auf Anfrage).

		Diagnose		
AESKULISA® **MPO**		POS	NEG	Summe
	POS	32	6	38
	Neg	2	99	101
	Summe	34	105	139

		95 % C.I.
Prozentuale Gesamtübereinstimmung*	94,2 %	89,1 % bis 97,1 %
Positive prozentuale Übereinstimmung*	94,1 %	80,9 % bis 98,4 %
Negative prozentuale Übereinstimmung*	94,3 %	88,1 % bis 97,4 %

* Nur Proben mit Erkrankungen mit einer deutlichen Anzahl von Antikörpern gegen MPO wurden berücksichtigt.

Anzahl der Proben mit	***AESKULISA®*** **MPO**		
Diagnose	POS	NEG	**Sum-me**
Hörsturz	1	0	**1**
Chronische Nierenerkrankung	0	1	**1**
Churg-Strauss-Syndrom	0	2	**2**
Chronisch obstruktive Lungenerkrankung	3	0	**3**
Morbus Crohn	0	6	**6**
Endokarditis	0	1	**1**
Goodpasture-Syndrom	0	1	**1**
Gesund	1	0	**1**
HIV	0	1	**1**
Lähmung	0	1	**1**
Polymyalgia rheumatica (Vaskulitis)	0	1	**1**
Reaktive Arthritis	0	21	**21**
Rheumatoide Arthritis	0	1	**1**
SLE	1	0	**1**
Colitis ulcerosa	0	6	**6**
Colitis ulcerosa (septische Pilzinfektion)	0	1	**1**
Wegenersche Granulomatose	0	56	**56**
*Glomerulonephritis (c-ANCA-positiv)**	0	1	**1**
*Glomerulonephritis (GN)**	2	0	**2**
*mPAN**	30	0	**30**
*Wegenersche Granulomatose / GN**	0	1	**1**
Summe	**38**	**101**	**139**

10.3 Linearität

Für ausgewählte Seren konnte ein linearer Zusammenhang zwischen Verdünnung und Antikörperkonzentration in diesem Test ermittelt werden. Aufgrund der Heterogenität humaner Antikörper ist jedoch nicht auszuschließen, dass einzelne Seren ein nichtlineares Verhalten zeigen.

Proben Nr.	Verdünnung	gemessene Konzentration (U/ml)	erwartete Konzentration (U/ml)	Wiederfindung (%) 90-110%
1	1 / 100	76,5	78,0	98,1
	1 / 200	37,3	39,0	95,6
	1 / 400	19,2	19,5	98,5
	1 / 800	9,4	9,8	95,9
2	1 / 100	32,8	33,0	99,4
	1 / 200	17,4	16,5	105,5
	1 / 400	9,0	8,3	108,4
	1 / 800	4,2	4,1	102,4
3	1 / 100	342,15	325	105,3
	1 / 200	177,5	162,5	109,2
	1 / 400	85,8	81,25	105,6
	1 / 800	42	40.625	103,4
4	1 / 100	235,5	252	93,5
	1 / 200	121,15	126	96,2
	1 / 400	60,3	63	95,7
	1 / 800	33,65	31,5	106,8

10.4 Präzision

Zur Kontrolle der Assaypräzision wurde mit acht Seren in verschiedenen Bereichen der Standardkurve die Intra- und Interassay-Varianz ermittelt.

Intraassay			Interassay			Lot-to-Lot Varianz		
Probe Nr.	**Mittelwert (U/ml)**	**CV % (Varianz)**	**Probe Nr.**	**Mittelwert (U/ml)**	**CV % (Varianz)**	**Probe Nr.**	**Mittelwert (U/ml)**	**CV % (Varianz)**
1	6,2	14,3	1	6,2	14,4	1	6,2	12,7
2	7,1	10,6	2	7,1	10,8	2	7,0	10,8
3	10,1	9,0	3	10,1	8,8	3	10,1	8,8
4	14,6	9,4	4	14,6	9,3	4	14,3	9,2
5	25,9	8,0	5	28,9	7,7	5	25,6	6,5
6	38,6	1,6	6	38,6	1,7	6	32,7	3,7
7	78,5	2,5	7	78,5	3,0	8	162,3	7,4
8	173,9	5,7	8	173,9	5,8	9	53,5	8,2

10.5 Kalibration

Das quantitative Meßsystem ist mangels eines internationalen Referenzstandards in vorläufigen Einheiten kalibriert. Die Ergebnisse werden in U/ml angegeben.

11 Literatur

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. Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR and Burek CL (2007). *Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Clin Exp Immunol; 150: 42-48.

6. Wiik A, Stummann L, Kjeldsen L et al. (1995). *The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens.* Clin Exp Immunol; 101: Suppl 1, 15-17.

7. Sutton BJ, Little C, Olsen RL and Willassen NP (1988). *Preliminary crystallographic analysis of human myeloperoxidase.* J Mol Biol; 199: 395-396.

8. Zeng J and Fenna RE (1992). *X-ray crystal structure of canine myeloperoxidase at 3 A resolution.* J Mol Biol; 226: 185-207.

9. Radice A and Sinico RA (2005). *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Autoimmunity; 38: 93-103.

10. Kallenberg CGM (2007). *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase. in Autoantibodies (ed. Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL) (2007)* 2nd Edition 95-103

12 Regulatorische Symbole

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	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
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	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
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	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+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)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	