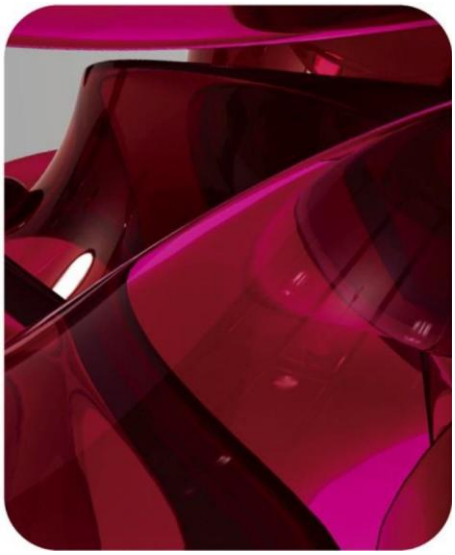
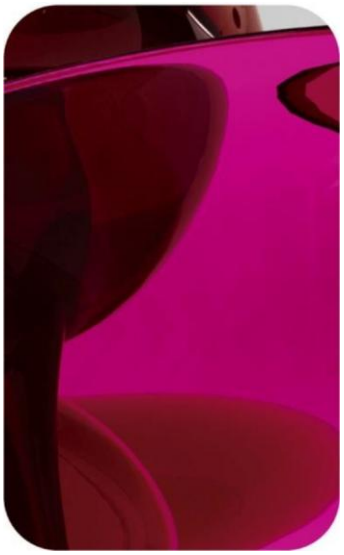
AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS







AESKUBLOTS®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

GEBRAUCHS - ANWEISUNG

AESKUBLOTS® Vasculitis Pro

Ref 4002

CE

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 5
8 Qualitative Auswertung 8
9 Technische Daten 10
10 Leistungsdaten 10
11 Entsorgung 13
12 Literatur 14
13 Regulatorische Symbole 15

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

1 Zweckbestimmung

Der ***AESKUBLOTS*®** **Vasculitis Pro** ist ein membrangebundener Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis von Antikörpern der Subklasse IgG gegen PR3, MPO und GBM in humanem Serum. Die Antigene sind an definierten Stellen als Linien auf Nitrozellulosemembranen aufgebracht.

Der Test dient der Differentialdiagnose autoimmuner Vaskulitiden.

Das Test-Kit ist nur für den professionellen Gebrauch in Laboren bestimmt.

2 Klinische Anwendung und Testprinzip

Antikörper gegen Proteinase 3 (PR3) und Myeloperoxidase (MPO) gehören zu der Gruppe der anti-neutrophilen-cytoplasmatischen Antikörper (ANCAs), die spezifisch gegen Komponenten des Cytoplasmas von neutrophilen Granulozyten und Monozyten gerichtet sind. ANCAs wurden als bedeutende Marker bei der Differentialdiagnose von autoimmunen Vaskulitiden beschrieben. Anti-PR3-Antikörper sind ein spezifischer serologischer Marker für die Granulomatose mit Polyangiitis (Wegener‘s) und könnten eine Rolle bei der Krankheitsentstehung spielen. Anti-PR3-Antikörper korrelieren stark mit der Krankheitsaktivität und sind in der Lage, die proteolytische Aktivität der Proteinase 3 zu inhibieren. Anti-MPO-Antikörper treten bei der idiopathischen und Vaskulitis-assoziierten rasch progressiven Glomerulonephritis auf. Sie werden bis zu 70 % bei der mikroskopischen Polyangiitis und bis zu 5-50 % bei dem Churg-Strauss-Syndrom gefunden.

Der serologische Nachweis von im Blut zirkulierenden Antikörpern gegen die glomeruläre Basalmembran im Nierenkörperchen (glomerular basement membrane, GBM) ist für die Diagnosestellung des Goodpasture-Syndroms heutzutage Mittel der Wahl. Diese Autoimmunerkrankung der Nieren wurde nach Ernest Goodpasture benannt, der eine Koexistenz von alveolären Hämorrhagien und fortschreitender Glomerulonephritis erstmals beschrieb.

Testprinzip
Die Antigene sind als Linien auf die Nitrozellulosemembran-Streifen aufgebracht. Die Membran ist blockiert, um unspezifische Bindungen zu verhindern. Die Membran-Streifen mit den spezifischen Antigenen werden in den Inkubationswannen mit 1:101 verdünnten Serumproben inkubiert. Hierbei binden spezifische Antikörper aus dem Patientenserum, wenn vorhanden, an das Antigen auf der Membran. Ungebundene Serumkomponenten werden im folgenden Waschschritt weggewaschen. Anschließend werden Antikörper gegen humane Immunglobuline, 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, bei der das farblose Substrat präzipitiert (blau). Die Reaktion wird mit destilliertem Wasser abgestoppt.

3 Kit Bestandteile

Vor Gebrauch rekonstituieren				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschlusses	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Blockier-Reagenz	3 x für je 10 ml Konzentrat	weiß	N/A	Magermilchpulver zum Ansatz von 10 ml Probenpuffer
Waschpuffer 20x	1 x 50 ml	weiß	farblos	20-fach konzentriert für 1 L Tris-Puffer, pH 6,9 ± 0,2
Gebrauchsfertig				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschlusses	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Konjugat IgG	1 x 10 ml	blau	farblos	Anti-human Immunglobulin G (IgG) markiert mit Meerrettichperoxidase
Substrat	1 x 10 ml	schwarz	farblos	Stabilisiertes TMB/ H_2O_2
Teststreifen	24 Streifen	Farbkodierung lila	N/A	Aufgebrachte Antigene siehe Zweckbestimmung.
Pinzette, transparente Auswertschablone, Auswerteblatt, beidseitig klebendes Etikett (weiß) zur Streifenfixierung	Je 1 Stück	N/A	N/A	N/A
Inkubationswanne	3 Stück	N/A	N/A	N/A
Etiketten für Probenpuffer	3 Stück	N/A	N/A	N/A
Erforderliche Materialien, nicht im Kit enthalten				
Wippschüttler, Messzylinder 1000 ml, Pipette oder Messzylinder für 10 ml Volumen, Mikropipetten (10, 1000 µl), absorbierendes Papier oder 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 Membranstreifen muss bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F in den Originalflaschen erfolgen. Verdünnter Waschpuffer, sowie geöffnete Streifen, Konjugat und TMB sind bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F sechs Wochen haltbar. Für rekonstituiertes Blockier-Reagenz gilt eine Haltbarkeit von 3 Wochen bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Kitbestandteile, bei denen das Verfallsdatum überschritten ist, dürfen nicht mehr verwendet werden! Eine starke Lichteinwirkung auf die TMB-Substratlösung ist zu vermeiden.

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.

Alle Bestandteile des Kits sind gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 [CLP] eingestuft. Weitere Informationen zu den Inhaltsstoffen finden Sie im Material- und Sicherheitsdokument (MSDS).

Stoffe, die auf der sogenannten "Candidate List of Substances of very High Concern (SVHCV) for authorization" der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA) aufgeführt sind, sind keine beabsichtigten Bestandteile dieses Produkts. Es ist daher nicht zu erwarten, dass diese Stoffe in Mengen ≥ 0,1 % in dem Produkt enthalten sind.

Die Komponenten sollten sicher gelagert werden und für Kinder unzugänglich sein.

Insbesondere enthalten die Komponenten keine Stoffe in Konzentration ≥ 0,1 % die als PBT oder vPvB einzustufen sind.

Patientenproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und gemäß den nationalen Gesetzen zu handhaben. Patientenproben und anderes potenziell infektiöses Material sollten nach dem Testlauf dekontaminiert werden.

5.2 Allgemeine Hinweise

Zur Unterscheidung der erhältlichen ***AESKUBLOTS***® Tests ist oberhalb der Bezugslinie auf den Streifen eine Farbkodierung angebracht:

Farbkodierung	***AESKUBLOTS***®
rot	ANA-17 comp
orange	ANA-17 Pro
braun	Liver Pro
lila	Vasculitis Pro
schwarz	Gastro Pro
grün	Borrelia-G und Borrelia-M

Sollten Produktinformationen, einschließlich Etikettierung, inkorrekt sein, kontaktieren Sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Blockier-Reagenz und Waschpuffer dürfen zwischen Chargen und Testpackungen ausgetauscht werden. Alle anderen Komponenten sind spezifisch und dürfen nicht

ausgetauscht werden. Komponenten dürfen zwischen Autoimmun- und Borrelia Diagnostik-Tests nicht ausgetauscht werden!

Für den Umgang mit dem Konjugat dürfen keine Gefäße aus Polystyrol verwendet werden.

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, um optimale Testergebnisse zu erhalten.

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

Die Substratlösung immer mit verkaufsneuen Pipettenspitzen pipettieren, um Kontaminationen zu vermeiden. Substratlösung vor Licht schützen. Konjugat niemals mit Pipettenspitzen pipettieren, welche mit anderen Reagenzien kontaminiert sind.

Die Farbintensitäten der Banden müssen nicht mit den Antikörpertitern übereinstimmen, die mit Referenzmethoden bestimmt wurden.

Auch Proben offensichtlich gesunder Personen können Autoantikörper aufweisen.

Bei erhöhter Konzentration an Immunkomplexen oder anderen Immunglobulin-Aggregaten in einer Probe sind falsch positive Ergebnisse durch nicht spezifische Bindungen nicht auszuschließen.

Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht allein 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 Serumproben innerhalb von 8 h verwendet werden, bzw. verschlossen für 48 h bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F aufbewahrt werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben bei -20 °C/-4 °F tiefgefroren werden. Mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben sollte vermieden werden. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4) Keine hitzeinaktivierten (56 °C/132,8 °F) Serumproben verwenden.

7 Testdurchführung

7.1 Vorbereitung

Eventuell auskristallisierte Salze des Waschpuffer-Konzentrates in Lösung bringen. Kristalle können durch leichtes Erwärmen, Raumtemperatur sollte ausreichend sein, wieder gelöst werden.

Konzentrierten Waschpuffer 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnen (z.B. 50 ml plus 950 ml).

Zur Herstellung des Probenpuffers: 10 ml Waschpuffer zu einer Flasche Blockier-Reagenz geben und gut mischen.

7.2 Arbeitsschritte

Wichtige Hinweise:

Das Protokoll ist genau einzuhalten. Stellen Sie sicher, dass die beiden in den Schritten 2, 6 und 9 im Protokoll genannten Komponenten in die Inkubationswanne gegeben werden.

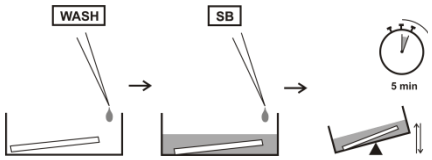
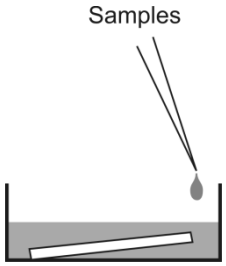
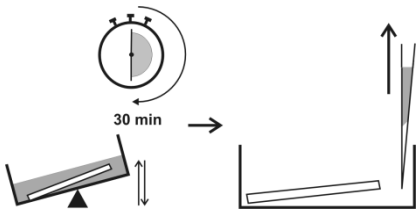
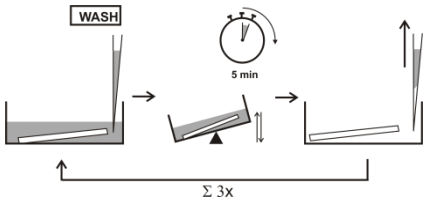
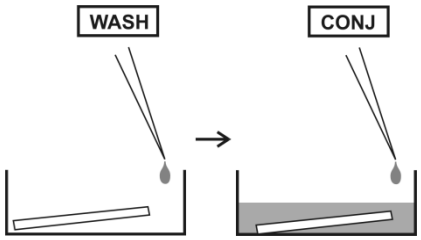
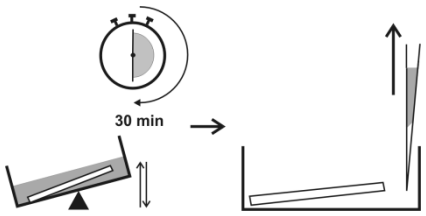
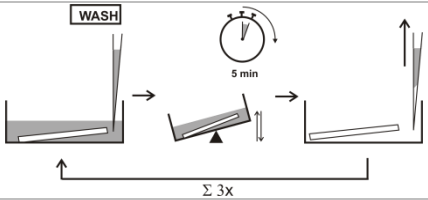
Teststreifen zwischen den Inkubationsschritten nicht austrocknen lassen.

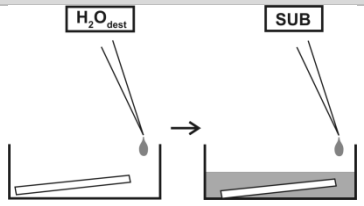
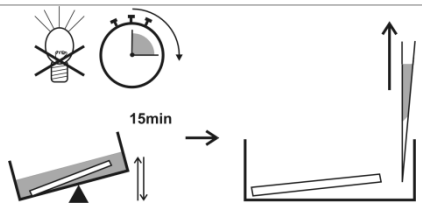
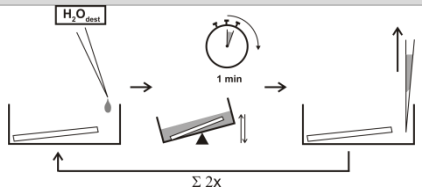
Teststreifen nicht mit der Hand berühren, Pinzette verwenden.

Verdünnte Serumproben nach der Inkubation vollständig entfernen, um Verschleppung zu verhindern.

Während der Inkubation Teststreifen kontinuierlich mittels Wippschüttler schütteln.

Probenpuffer, Konjugat und Substrat zusammen mit dem Waschpuffer an eine Seite der Inkubationswanne geben. Nicht über den Streifen fließen lassen.

Schritt	*Beschreibung*
1.	Stellen Sie sicher, dass die Vorbereitungen aus Kapitel 7.1 vor Beginn durchgeführt worden sind.
2.	 Streifen in korrekter Orientierung (Bezugslinie und Farbkodierung nach oben) in die Inkubationswanne legen. Streifen nur mit Pinzette anfassen. 700 µl Waschpuffer und 300 µl Probenpuffer in die Inkubationswanne mit Streifen geben. Streifen vollständig mit der Lösung benetzen und 5 Minuten unter Schütteln inkubieren lassen.
PROBE	
3.	 Pipettieren Sie jeweils 10 µl Serumprobe in die Inkubationswanne mit dem vorgesehenen Streifen und dem Probenpuffer.
4.	 30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F unter Schütteln inkubieren. Danach die Probe vollständig entfernen.
5.	 3-mal für 5 Minuten mit jeweils 1,5 ml Waschlösung unter vorsichtigem Schütteln waschen. Waschlösung nach jedem Waschschritt entfernen.
KONJUGAT	
6.	 700 µl Waschlösung und 300 µl Konjugat in jede Inkubationswanne mit Streifen geben.
7.	 30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F unter Schütteln inkubieren. Konjugat entfernen.
8.	 3-mal für 5 Minuten mit jeweils 1,5 ml Waschlösung unter vorsichtigem Schütteln waschen. Waschlösung nach jedem Waschschritt entfernen.

SUBSTRAT		
9.		700 µl dH_2O und 300 µl Substrat in jede Inkubationswanne mit Streifen geben.
10.		15 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F unter Schütteln inkubieren, vor intensiver Lichteinstrahlung schützen. Substrat entfernen.
STOPP		
11.		2 ml dH_2O hinzugeben. 1 Minute unter Schütteln inkubieren. dH_2O entfernen. Diesen Schritt 1-mal wiederholen
12.	Streifen aus der Inkubationswanne nehmen und zwischen Filterpapier trocknen.	
13.	Inkubierte Streifen innerhalb von 24 h auswerten.	

***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** ist auch für die automatische Abarbeitung und Auswertung auf dem ***HELIA*® Automated Blot System** bestimmt.

Reagenzvorbereitung für ***HELIA*® Automated Blot System**: Verdünnen Sie einen Teil Waschpufferkonzentrat (WASH) mit 19 Teilen bidest. Wasser (z.B. 50 ml Waschpufferkonzentrat und 950 ml bidest. Wasser), um gebrauchsfertigen Waschpuffer zu erhalten. Alle anderen, flüssigen Reagenzien sind gebrauchsfertig, für den Einsatz auf dem ***HELIA*® Automated Blot System**. Eine detaillierte Beschreibung der Testdurchführung finden Sie in der Bedienungsanleitung des ***HELIA*® Automated Blot System**.

8 Qualitative Auswertung

Sollten die Werte der Kontrollen nicht die Validierungskriterien erfüllen, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden. Bei grenzwertigen Ergebnissen wird ebenfalls die Wiederholung mit einer neuen Probe empfohlen.

Die folgenden möglichen Fehlerquellen sollten überprüft werden: Haltbarkeitsdaten der Reagenzien, Lagerbedingungen, Pipetten, verwendete Geräte, Inkubationsbedingungen und Waschmethoden.

Sollten die getesteten Proben ungewöhnliche Werte oder Abweichungen zeigen, oder werden die Validierungskriterien aus Gründen, die nicht in der Verantwortlichkeit des Ausführenden liegen, nicht erfüllt, kontaktieren Sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Medizinische Laboratorien sollten eigene Qualitätskontrollen mit eigenen Kontrollen und/oder Poolseren nach nationalem Reglement durchführen.

8.1 Manuelle Auswertung

Der Test kann als valide angesehen werden, wenn

- die Funktionskontrolle erscheint,
- die Grenzwertkontrolle sichtbar ist,
- die Farbintensität der Grenzwertkontrolle schwächer als die der Funktionskontrolle ist.

Den getrockneten Streifen mit übereinstimmender Referenzlinie auf dem Auswertblatt fixieren. Die Auswerteschablone mit übereinstimmender Referenzlinie an den Teststreifen anlegen. Die Ergebnisse ausschließlich anhand der Grenzwertkontrolle auf dem betrachteten Teststreifen interpretieren.

Jeder Testpackung liegt eine Farbkopie mit allen im Test nachweisbaren Banden bei.

Die Auswertung erfolgt anhand des Vergleichs der Farbintensität der aufgetretenen Bande mit der Farbintensität der Grenzwertkontrolle. Liegt die Farbintensität der Bande im Bereich der Grenzwertkontrolle, so ist der Test als grenzwertig zu bewerten. Bei einer intensiveren Färbung ist der Test als positiv, bei einer schwächeren als negativ einzustufen.

Die Testergebnisse können auf dem Auswerteblatt eingetragen werden.

8.2 Softwaregestützte Auswertung

Die Analyse des Tests kann auch durch die Verwendung der AESKU.SCAN Software durchgeführt werden. Unter Verwendung der AESKU.SCAN Software ist die dazugehörige Gebrauchsanweisung zu betrachten.

Der Test kann als valide angesehen werden, wenn:

- die Funktionskontrolle erscheint,
- die Grenzwertkontrolle sichtbar ist,
- die Farbintensität der Grenzwertkontrolle schwächer als die der Funktionskontrolle ist.

AESKU.SCAN 2.0:

Den getrockneten Streifen mit übereinstimmender Referenzlinie auf dem Auswertblatt fixieren. Die Auswerteschablone mit übereinstimmender Referenzlinie an den Teststreifen anlegen.

Die Streifen anhand der Gebrauchsanweisung der AESKU.SCAN 2.0 Software auswerten.

Die qualitative Analyse erfolgt durch Ermittlung des Vergleiches der Farbintensitäten der einzelnen aufgetretenen Banden im Vergleich zur Cut-off Kontrolle.

AESKU.SCAN 3.0:

Die Streifen in der Inkubationswanne in den Reader hineinstellen.

Die Streifen anhand der Gebrauchsanweisung der AESKU.SCAN 3.0 Software auswerten.

Die qualitative Analyse erfolgt durch Ermittlung des Vergleiches der Farbintensitäten der einzelnen aufgetretenen Banden im Vergleich zur Cut-off Kontrolle.

HELIA® Automated Blot System:

Bei der Verwendung eines ***HELIA*® Automated Blot System**, erfolgt eine automatische Analyse der Ergebnisse. Die Ergebnisse werden in Index-Werten dargestellt.

Die folgende Interpretation bezüglich der Signal-Intensitäten wird angegeben:

Ergebnis Interpretation	Symbol	Index	Farbe
negativ	-	0.0 - <0.8	Farblos
grenzwertig	+/-	≥0.8 - <1.15	Blau
schwach positiv	+	≥1.15 - <2.5	Gelb
positiv	++	≥2.5 - <4.0	Rot
stark positiv	+++	≥ 4.0	Dunkelrot

9 Technische Daten

Probenmaterial:	Serum
Probenvolumen:	10 µl Serum
Gesamt-Inkubationszeit:	112 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F
Lagerung:	bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F in Originalflaschen.
Zahl der Bestimmungen:	24 Tests

10 Leistungsdaten

10.1 Normal Range Studie

Die Erwartungswerte für ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** wurden mit einem Panel von 120 Seren von gesunden Spendern analysiert.

Alle Tests wurden vollautomatisch gemäß den aktuellen IFUs durchgeführt.

***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro - Normal Range - Report**										
Antigen	**Proben-anzahl**	**Positive Proben**		**Grenzwertige Proben**		**Negative Proben**		**Min [Index]**	**Max [Index]**	**Mittelwert [Index]**
		n	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**			
PR3	120	0	0,00	2	1,67	118	98,33	0.00	1,12	0,36
MPO	120	0	0,00	0	0,00	120	100,00	0.00	0,69	0,14
GBM	120	0	0,00	1	0,83	119	99,17	0.00	0,84	0,03

Bei ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** gab es einige grenzwertige Ergebnisse. Am häufigsten war das Antigen PR3 mit zwei Proben, die als grenzwertig gemessen wurden. Der niedrigste gemessene Indexwert war 0,0, der höchste gemessene Indexwert war 1,12 (PR3).

Die geringe Anzahl positiver Proben, die wir mit ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** in der getesteten gesunden Bevölkerung gefunden haben, korreliert mit den in der Literatur beschriebenen Zahlen.

Wir empfehlen in der Gebrauchsanweisung in Kapitel 8: „Quantitative und qualitative Interpretation“, dass jedes Labor seinen eigenen Normalbereich festlegen sollte.

10.2 Präzision

Intra-Assay Präzision

Zur Bestimmung der Within-Lab / Intra-Assay Präzision wurden fünf verschiedene Seren (S1 – S5) 20-mal am ***AESKUBLOTS*®** **Vasculitis Pro** getestet. Aus diesen Werten wurden die positive und negative Übereinstimmung berechnet (n=20).

Übereinstimmungen	
Positive Übereinstimmung [%]	100.0
Negative Übereinstimmung [%]	100.0
Gesamt Übereinstimmung [%]	100.0

Inter-Assay Präzision

Zur Bestimmung der Inter-Assay / Day to Day Präzision wurden fünf verschiedene Seren (S1-S5) mit unterschiedlich hohen Antikörpertitern 8-mal pro Lauf in insgesamt fünf Läufen an fünf verschiedenen Tagen (n=40) getestet. Für Tag 1 wurden die Ergebnisse aus der Within-Lab / Intra-Assay Präzision verwendet (n=20). Aus diesen Werten wurden die positive und negative Übereinstimmung berechnet.

Übereinstimmungen	
Positive Übereinstimmung [%]	100.0
Negative Übereinstimmung [%]	100.0
Gesamt Übereinstimmung [%]	100.0

Lot-to-Lot Präzision

Zur Bestimmung der Lot-to-Lot Präzision wurden fünf verschiedene Seren (S1-S5) über den gesamten Messbereich 8-mal auf drei Lots (n=24) getestet. Lot 1 wurde aus Lauf 1 der Inter-Assay Präzision entnommen. Die positive und negative Übereinstimmung wurde über die Testwerte der drei verschiedenen Lots berechnet.

Übereinstimmungen	
Positive Übereinstimmung [%]	100.0
Negative Übereinstimmung [%]	100.0
Gesamt Übereinstimmung [%]	100.0

10.3 Relative Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der positiven Übereinstimmung (relative Sensitivität) wurden 50 Seren von IIF oder ELISA Antikörper positiven Patienten am ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** getestet. Zur Bestimmung der negativen Übereinstimmung (relative Spezifität) wurden 170 Seren von Blutspendern analysiert.

	positive Übereinstimmung (relative Sensitivität)	negative Übereinstimmung (relative Spezifität)
PR3	96 %	100 %
MPO	92 %	100 %
GBM	100 %	100 %

10.4 Diagnostische Sensitivität und Spezifität

In einer klinischen Studie wurden verschiedene Serumproben von Patienten mit MPO-Antikörpern, SLE-Patienten und gesunde Kontrollen mit dem ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** analysiert. Außerdem wurden diese Proben mit einem konkurrierenden Westernblot gemessen. Alle Tests wurden gemäß den aktuellen Gebrauchsanweisungen durchgeführt. Anschließend wurden die Ergebnisse verglichen, um die Sensitivität und Spezifität des Assays zu bestimmen.

	Sensitivität	Spezifität SLE Patienten	Spezifität gesunde Kontrollen
PR3	could not be determined	100 %	100%
MPO	100 %	98.20 %	100 %
GBM	could not be determined	100 %	100 %

In einigen Fällen konnte die Sensitivität für einzelne Parameter nicht berechnet werden, da es in den Kohorten keine positiven Proben gab. Für MPO konnte jedoch eine Sensitivität von 100 % berechnet werden. Die Spezifität von SLE-Patienten und gesunden Kontrollen zeigen sehr gute Ergebnisse von > 97 %. Aufgrund des Mangels an positiven Proben für PR3 und GBM wurde der ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** in einer externen Studie, mit verschiedenen Line-Blots von unterschiedlichen Anbietern, verglichen.

10.5 Externe Studie

Referenz/Paper: *Evaluation of PR3- and MPO-ANCA line and dot immunoassays in ANCA-associated vasculitis, Nina Kempiners et al., Rheumatology 2020;00:1-5*

Ziel dieser Studie war es, die diagnostische Genauigkeit neuartiger Line- und Dot-Immunassays zum Nachweis von MPO und PR3 ANCA zu bewerten. Zu diesem Zweck wurden Seren von 50 Patienten mit ANCA-assoziierter Vaskulitis, einschließlich Granulomatose mit Polyangiitis und mikroskopischer Polyangiitis, sowie 45 Proben von Kontrollpersonen mittels IIFT und vier verschiedenen Line- oder Dot-Immunassays untersucht. Folgenden Unternehmen nehmen an dieser Studie teil: Orgentec (Assay: LIA ORG789), Human (Assay: ITC82040), Euroimmun (Assay: Euroline Profil MPO/PR3/GBM) und Aesku.Diagnostics (Assay: ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro**)

	AESKU Diagnostics	Orgentec	Human	Euroimmun
Accuracy	89,5 %	84,2 %	85,3 %	89,5 %
Sensitivity	94,0 %	74,0 %	82,0 %	96,0 %
Specificity	84,4 %	95,6 %	88,9 %	82,2 %

Im Vergleich zu den anderen getesteten Wettbewerbern zeigt der ***AESKUBLOTS*® Vasculitis Pro** eine sehr gute Genauigkeit und Sensitivität. Die Spezifität ist im Vergleich zu de anderen Wettbewerbern geringer, liegt aber immer noch über der berechneten Spezifität von Euroimmun. Für detaillierte Informationen ist die entsprechende Literatur zu beachten.

11 Entsorgung

Bitte beachten Sie die relevanten gesetzlichen Vorschriften!

12 Literatur

Csernok E, Muller A, Gross WL (1999). Immunopathology of ANCA-associated vasculitis. Intern Med. 38:759–765.

Dolman KM, Stegman CA, van de Wiel BA, Hack CE, von dem Borne AE, Kallenberg CG, Goldschmeding R (1993). Relevance of classic anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (cANCA)-mediated inhibition of proteinase 3-alpha 1-antitrypsin complexation to disease activity in Wegener's granuloma-tosis. Clin Exp Immunol.93:405–410.

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.

Goldschmeding R, van der Schoot CE, ten Bokkel Huinink D, et al. (1989). Wegener's granulomasis autoantibodies identify a novel di isopropylfluorphosphate-binding protein in the lysaomes of human neutrophils. J Clin Invest. 84:1577–1587.

Kalluri R, Wilson CB, Weber M (1995). Identification of the a3 chain of type IV collagen as the common autoantigen in anti basement membrane disease and Goodpasture syndrome. J Am Soc Nephrol. 6:1178–1185.

Turner AN, Rees AJ (1998). Anti-glomerular basement membrane disease. In: Rapidly progressive glomerulonephritis. Pusey CD, Rees AJ, eds., Oxford University Press, Oxford.

Kempiners et al. (2020), Evaluation of PR3- and MPO-ANCA line and dot immunoassays in ANCA-associated vasculitis, Rheumatology 2020;00:1-5

13 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 24	¨ 24 determinazioni	¨ 24 tests
	¨ 24 tests	¨ 24 pruebas
	¨ 24 Bestimmungen	¨ 24 προσδιορισμοί
	¨ 24 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	
STRIP	¨ Strip di nitrocelluslosa rivestita	¨ Coated nitrocellulose strip
	¨ Strip de nitrocellulose couché	¨ Tira de nitrocelulosa recubierta
	¨ Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebrachten Antigenen	¨ Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	¨ Tira de nitrocelulose revestido	
WASH 20x	¨ Tampone di lavaggio	¨ Wash buffer
	¨ Tampon de Lavage	¨ Solución de lavado
	¨ Waschpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	¨ Solucão de lavagem	
BLOCK-REAG	¨ Reagente bloccante	¨ Blocking Reagent
	¨ réactif de blocage	¨ Reactivo bloqueante
	¨ Blockier-Reagenz	¨ Αντιδραστήριο αποκλεισμού
	¨ Bloqueio de reagente	
RCNS 10ml	¨ Ricostituire con 10 mL	¨ Reconstitute with 10 mL
	¨ reconstituer avec 10 mL	¨ reconstituir con 10 mL
	¨ rekonstituiren mit 10 mL	¨ Ανασύσταση με 10 mL
	¨ reconstituir com 10 mL	
SB	¨ Tampone campione	¨ Sample buffer
	¨ Tampon Echantillons	¨ Tampón Muestras
	¨ Probenpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	¨ Diluente de amostra	
CONJ	¨ Coniugato	¨ Conjugate
	¨ Conjugé	¨ Conjugado
	¨ Konjugat	¨ Σύζευγμα
	¨ Conjugado	
SUB	¨ Tampone substrato	¨ Substrate buffer
	¨ Substrat	¨ Tampón sustrato
	¨ Substratpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	¨ Substrato	