AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

GEBRAUCHSANWEISUNG

AESKULISA® Rubella Virus IgG / IgM

Ref 6022 / 6023

CE 2797 | Σ 96 | 2°C – 8°C | IVD

Aktualisierungen	
Aktuelle Version	V.006 vom 21.11.2024
Vorversion	V.005 vom 30.11.2021
Änderungen in Kapitel	Adresse, Kapitel 13
Grund für Änderungen	UDI Implementierung, Aktualisierung Adresse, Kapitel 13 hinzugefügt

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

Inhalt

1 Zweckbestimmung ... 1
2 Diagnostische Bedeutung ... 1
3 Testprinzip *AESKULISA*® ... 2
4 Antigen ... 2
5 Komponenten des *AESKULISA*® ... 2
6 Zusätzlich benötigte Materialien ... 3
7 Lagerung und Haltbarkeit ... 3
8 Durchführung *AESKULISA*® ... 3
8.1 Allgemeine Hinweise ... 3
8.2 Reagenzienvorbereitung ... 4
8.2.1 Mikrotiterstreifen (gebrauchsfertig) ... 4
8.2.2 Kalibratoren (gebrauchsfertig) ... 4
8.2.3 Kontrollen (gebrauchsfertig) ... 4
8.2.4 Probenverdünnungspuffer (5x konz.) ... 4
8.2.5 Waschpuffer (50x konz.) ... 4
8.2.6 Anti-Human IgA, IgG oder IgM POD-Konjugat (gebrauchsfertig) ... 5
8.2.7 Substrat (gebrauchsfertig) ... 5
8.2.8 Stopplösung (gebrauchsfertig) ... 5
8.3 Probenvorbereitung ... 5
8.3.1 Probenmaterial ... 5
8.3.2 Probenverdünnung ... 5
8.3.3 Rheumafaktor-Absorption mit *AESKULISA*® IgM ... 5
8.3.4 Probenlagerung ... 5
8.4 Durchführung ... 6
8.4.1 Pipettierschema ... 6
8.4.2 Testablauf ... 6
8.5 Durchführung bei automatisierter Anwendung ... 8
9 Auswertung *AESKULISA*® ... 8
9.1 Standardisierung ... 8
9.2 Quantitative Auswertung ... 8
9.3 Grenzwertbereich ... 8
9.4 Messbereiche ... 8
9.5 Qualitative Auswertung ... 9
9.6 Gültigkeitskriterien ... 9
9.7 Interpretation der Ergebnisse ... 9
10 Leistungsmerkmale *AESKULISA*® ... 10
10.1 Analytische Sensitivität und Spezifität ... 10
10.2 Diagnostische Sensitivität und Spezifität ... 10
10.3 Erwartungswerte ... 11
10.4 Präzision ... 11
11 Sicherheitshinweise ... 12
11.1 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen ... 12
11.2 Entsorgung ... 12
12 Referenzen ... 13
13 Regulatorische Symbole ... 15

1 Zweckbestimmung

Die *AESKULISA*® Rubella Virus IgG und IgM sind qualitative und quantitative Immunoassays für den Nachweis von humanen IgG und IgM Antikörpern in Serum oder Plasma gegen Rubella Virus. Der *AESKULISA*® Rubella Virus IgM dient als initialer Test zur Erfassung akuter Infektionen. Der *AESKULISA*® Rubella Virus IgG erlaubt die Bestätigung eines Erregerkontakts und unterstützt die Bestimmung des Immunstatus.

Die Interpretation der Ergebnisse kann nur im Zusammenhang mit dem klinischen Bild erfolgen. Eine Diagnose sollte nicht allein auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern immer unter Berücksichtigung aller klinischen und laboratoriumsmedizinischen Befunde erstellt werden. Zur Bestätigung sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden. *AESKULISA*® Immunoassays sind geeignet für die Anwendung durch Fachangestellte mit entsprechender, professioneller Ausbildung zur Anwendung von *in vitro* Diagnostika.

2 Diagnostische Bedeutung

Das weltweit verbreitete Rubella Virus ist ein humanpathogenes, 50 – 70 nm großes (+)ssRNA-Virus aus der Familie der *Matonaviridae*. Es wird hauptsächlich aerogen durch Tröpfcheninfektion übertragen.

Etwa die Hälfte aller Infizierten zeigt keine Krankheitssymptome, so dass die Infektion häufig unbemerkt verläuft. Im Fall einer Erkrankung manifestieren sich die Röteln nach einer Inkubationszeit von 14 bis 21 Tagen in Form eines makulösen oder makulopapulösen Exanthems, das zunächst im Gesicht auftritt, sich im weiteren Verlauf über Rumpf und Extremitäten ausbreitet und in der Regel nach ein bis drei Tagen wieder verschwindet. Begleitend können unspezifische Krankheitssymptome wie Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen, Lymphknotenschwellungen und Konjunktivitis auftreten. Seltene, mit zunehmendem Lebensalter häufiger werdende Komplikationen, sind Arthritis, Thrombozytopenie und Enzephalitis. Darüber hinaus kann es auch zu Bronchitis, Otitis, Myo- oder Perikarditis kommen.

Eine besondere Gefahr stellt eine Röteln Virus Primärinfektion in der Schwangerschaft dar, die bei diaplazentarer Übertragung des Erregers zu schweren Komplikationen (Rötelnembryofetopathie) mit ausgeprägten Fehlbildungen des Kindes bis zu Fehlgeburten führen kann. Das fetale Infektionsrisiko und das Ausmaß der Schädigungen sind dabei – in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Infektion – unterschiedlich stark ausgeprägt. Klinische Manifestationen des kongenitalen Röteln Syndroms (CRS) umfassen Herzfehler, Trübung der Augen (Katarakt) und Taubheit. Weitere mögliche Folgen sind ein geringes Geburtsgewicht, Thrombozytopenie, Enzephalitis, Hepatosplenomegalie, oder Mikrozephalie.

Zur Prophylaxe stehen attenuierte Lebendimpfstoffe zur Verfügung. In Deutschland empfiehlt die Ständige Impfkommission (STIKO) die Immunisierung für Kinder ab einem Alter von 11 – 14 Monaten sowie für Erwachsene, bei denen keine Immunisierung durchgeführt wurde und IgG Antikörper gegen Röteln Virus nicht nachweisbar sind.

Die Diagnose der Röteln allein aufgrund des klinischen Bildes ist unzuverlässig und labordiagnostisch abzuklären. Zu diesem Zweck stehen sowohl direkte als auch indirekte Nachweisverfahren zur Verfügung. In der Routinediagnostik erfolgt der indirekte Nachweis von Rubella Virus Infektionen sowie die Bestimmung des Immunstatus durch die serologische Erfassung Rubella Virus-spezifischer IgG und IgM Antikörper.

3 Testprinzip *AESKULISA*®

Der *AESKULISA*® (AESKU *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) ist ein immunologisches Verfahren, das sich insbesondere zur Erfassung von Antikörpern bewährt hat. Die Nachweisreaktion basiert auf der spezifischen Interaktion von Antikörpern und Antigenen. Zu diesem Zweck wurden die Teststreifen der Mikrotiterplatten der *AESKULISA*® mit spezifischen Antigenen von Infektionserregern zur Bindung der in der Patientenprobe vorhandenen Antikörper beschichtet. Weitere, mit Peroxidase markierte Sekundärantikörper detektieren die so gebildeten Immunkomplexe. Das Enzym katalysiert eine Reaktion, in deren Verlauf ein farbloses Substrat in ein farbiges Produkt umgewandelt wird. Die Signalstärke des Reaktionsprodukts ist proportional zur Antikörperaktivität in der Probe und wird photometrisch erfasst.

4 Antigen

Der Antikörpernachweis mit *AESKULISA*® Rubella Virus IgG und IgM basiert auf der Verwendung von gereinigten und inaktivierten Rubella Viren (Stamm HPV-77).

5 Komponenten des *AESKULISA*®

Testkomponente	Farbe der Lösung	Deckel-farbe	Anzahl / Volumen
Brechbare Mikrotiterstreifen MP mit je acht beschichteten Einzelkavitäten (insg. 96), 1 Testrahmen. Das testspezifische Beschichtungsmaterial ist inaktiviert.	-	-	12 Stück
Kalibratoren A – D CAL (gebrauchsfertig) Humanserum oder chimärer Antikörper in proteinhaltiger Lösung (BSA); gefärbt; Konservierungsstoff ProClin. Die Antikörperaktivitäten der Kalibratoren sind auf deren Etiketten und auf dem Qualitätskontrollzertifikat des *AESKULISA*® angegeben.	gelb*	weiß	4 x 1,5 ml
Positivkontrolle CON + (gebrauchsfertig) Humanserum oder chimärer Antikörper in proteinhaltiger Lösung (BSA); gefärbt; Konservierungsstoff ProClin.	gelb*	rot	1 x 1,5 ml
Negativkontrolle CON – (gebrauchsfertig) Humanserum oder chimärer Antikörper in proteinhaltiger Lösung (BSA); gefärbt; Konservierungsstoff ProClin.	gelb*	grün	1 x 1,5 ml
Probenverdünnungspuffer SB 5x**, 5x konz.** Proteinhaltige Lösung (BSA); gefärbt; Konservierungsstoff < 0,1 % Natriumazid. Der Probenpuffer für *AESKULISA*® IgM Immunoassays enthält Rf-Absorbent.	IgG, IgA: gelb IgM: grün	weiß	1 x 20 ml
Waschpuffer WASHB 50x**, 50x konz.** Lösung mit Tween 20; gefärbt; Konservierungsstoff ProClin.	grün	weiß	1 x 20 ml
Anti-Human IgA, IgG oder IgM Konjugat CONJ (gebrauchsfertig) Gegen humanes IgA, IgG oder IgM gerichteter, polyklonaler Antikörper, konjugiert mit Meerrettich-Peroxidase, stabilisiert in proteinhaltiger Lösung (BSA); gefärbt; Konservierungsstoff ProClin.	IgA: rot IgG: blau IgM: grün	IgA: rot IgG: blau IgM: grün	1 x 15 ml

Substrat SUB (gebrauchsfertig) Stabilisiertes TMB/H_2O_2.	farblos	schwarz	1 x 15 ml
Stopplösung STOP (gebrauchsfertig) 1 M Salzsäure (HCl).	farblos	weiß	1 x 15 ml
Qualitätskontrollzertifikat	-	-	1 Stück
Gebrauchsanweisung	-	-	1 Stück

*Die Farbintensität steigt mit der Antikörperaktivität.

6 Zusätzlich benötigte Materialien

- Übliche Laborausrüstung mit Glaswaren (Zylinder 100 – 1000 ml), Röhrchen für Verdünnungen, Vortexer, Mikropipetten (10, 100, 200, 500, 1000 µl) oder einstellbare Multipipette (100 – 1000 µl).
- Spektralphotometer für Mikrotiterplatten mit Filter, Wellenlänge 450 nm, empfohlene Referenzwellenlänge im Bereich von 600 – 690 nm (z. B. 620 nm)
- Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten
  (300 µl Multipipette, Mehrkanalpipette oder automatisches Waschsystem)
- Filterpapier
- *Aqua dest*.
  AESKULISA® Immunoassays wurden 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.).

7 Lagerung und Haltbarkeit

Die Mikrotiterstreifen sollen stets in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel verschlossen aufbewahrt werden. Bei sachgemäßer Lagerung in der Originalverpackungen und bei 2–8 °C / 35,6–46,4 °F sind die Reagenzien und die Mikrotiterplatte auch nach Anbruch bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Verdünnte Lösungen sind vier Wochen bei 2–8 °C / 35,6–46,4 °F haltbar.

8 Durchführung *AESKULISA*®

8.1 Allgemeine Hinweise

Die präzise Einhaltung der Gebrauchsanweisung gewährleistet korrekte Testergebnisse. Für die sachgemäße Anwendung der *AESKULISA*® Immunoassays dürfen nur *AESKULISA*® Reagenzien verwendet werden. Letztere können nicht gegen Reagenzien anderer Hersteller ausgetauscht werden.

Die Mikrotiterplatten, Kalibratoren, Kontrollen und Konjugate der *AESKULISA*® Immunoassays werden test- und chargenspezifisch eingestellt und können nicht in anderen Chargen eingesetzt werden. Die Bewertungen der Kalibratoren und Kontrollen sind auf dem Qualitätskontrollzertifikat des *AESKULISA*® Immunoassays angegeben. Waschlösung, Substratlösung und Stopplösung können mit allen *AESKULISA*® Immunoassays test- und chargenunabhängig kombiniert werden.

Der Probenverdünnungspuffer der *AESKULISA*® IgA und IgG Immunoassays kann mit allen *AESKULISA*® IgA und IgG Immunoassays (REF 6xxx) test- und chargenunabhängig eingesetzt werden. Der Probenverdünnungspuffer der *AESKULISA*® IgM Immunoassays enthält Rf-Absorbent und kann mit allen *AESKULISA*® IgM Immunoassays für die Infektionsserologie (REF 6xxx) test- und chargen-unabhängig angewendet werden.

Um Kontamination zu vermeiden, sollten immer aseptische Techniken zur Entnahme von Reagenzien angewendet werden. Die Konjugat- und Substratlösung sollte niemals mit Spitzen pipettiert werden, die mit anderen Reagenzien verunreinigt sind. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist u. a. von der sorgfältigen Homogenisierung der Reagenzien abhängig. Aus diesem Grund sollten Reagenzien- und Probenverdünnungen vor Anwendung gut durchmischt werden. Eine unsachgemäße Verdünnung kann zum Verlust der Nachweisempfindlichkeit führen.

Weiterhin ist auf eine sorgfältige Pipettiertechnik und die Einhaltung der vorgegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen zu achten. Korrektes Waschen verhindert Testunspezifitäten.

Die Reagenzien sollen während der Lagerung und Inkubation vor hellem Licht geschützt werden. Sie dürfen niemals Temperaturen über 37 °C / 98,6 °F ausgesetzt werden. Nach Gebrauch sollen die Reagenzien wieder gut verschlossen werden, um Austrocknung und Kontamination zu verhindern. Beim Verschließen der Fläschchen ist eine Verwechslung der Deckel zu vermeiden.

AESKULISA® Immunoassays können nur ausgewertet werden, wenn die Validitätskriterien erfüllt wurden.

8.2 Reagenzienvorbereitung

Alle Komponenten und die Mikrotiterplatte müssen vor dem Testansatz auf Raumtemperatur (20–25 °C / 68–77 °F) gebracht werden. Flüssige Reagenzien müssen gut durchmischt werden. Für die Verdünnung der Pufferkonzentrate dürfen nur saubere Glasflaschen verwendet werden.

8.2.1 Mikrotiterstreifen (gebrauchsfertig)

Die Mikrotiterstreifen sind mit Kürzeln für das beschichtete Antigen versehenen.

8.2.2 Kalibratoren (gebrauchsfertig)

Die Kalibratoren CAL A – CAL D sind gebrauchsfertig und dürfen nicht verdünnt werden. Bei jedem Testlauf müssen unabhängig von der Anzahl der eingesetzten Teststreifen Kalibratoren mitgeführt werden.

8.2.3 Kontrollen (gebrauchsfertig)

Die Positivkontrolle CON+ und die Negativkontrolle CON– sind gebrauchsfertig und dürfen nicht verdünnt werden. Bei jedem Testlauf müssen unabhängig von der Anzahl der eingesetzten Teststreifen Kontrollen mitgeführt werden.

Abhängig von nationalen Richtlinien können Laboratorien auch eigene Kontrollen validieren und alternativ verwenden.

8.2.4 Probenverdünnungspuffer (5x konz.)

Der konzentrierte Probenpuffer muss vor Anwendung 1:5 mit destilliertem Wasser verdünnt werden (z. B. 20 ml + 80 ml). Der Probenpuffer der *AESKULISA*® IgM Immunoassays enthält Rf-Absorbent.

8.2.5 Waschpuffer (50x konz.)

Der konzentrierte Waschpuffer muss vor Anwendung 1:50 mit destilliertem Wasser verdünnt werden (z. B. 20 ml + 980 ml).

8.2.6 Anti-Human IgA, IgG oder IgM POD-Konjugat (gebrauchsfertig)

Das Konjugat ist gebrauchsfertig.

8.2.7 Substrat (gebrauchsfertig)

Das TMB Substrat muss stets mit verkaufsneuen Spitzen pipettiert werden, um Kontaminationen zu vermeiden. Eine starke Lichteinwirkung auf die Substratlösung ist zu vermeiden.

8.2.8 Stopplösung (gebrauchsfertig)

Die Stopplösung ist gebrauchsfertig.

8.3 Probenvorbereitung

8.3.1 Probenmaterial

Die Verwendung frischer Serum- oder EDTA-Plasmaproben wird empfohlen. Ikterische, lipämische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden. Partikuläre Proben sollten zentrifugiert (< 1000 x g) und der Überstand zur weiteren Verwendung abgenommen werden. Die Proben dürfen nicht thermisch inaktiviert werden.

8.3.2 Probenverdünnung

Die Patientenproben müssen 1:101 (z. B. 10 µl + 1000 µl) mit 1x Probenpuffer verdünnt und gut durchmischt werden.

8.3.3 Rheumafaktor-Absorption mit *AESKULISA*® IgM

Rheumafaktoren (Rf) sind vorwiegend Autoantikörper der IgM Klasse, die bevorzugt an IgG Immunkomplexe binden. Der erregerspezifische Nachweis von IgM Antikörpern kann durch diese Rheumafaktoren zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Ferner könnten bindungsschwächere, erregerspezifische IgM Antikörper durch bindungsstärkere IgG Antikörper verdrängt werden. Ein IgM Nachweis kann dann falsch-negativ ausfallen. Aus diesem Grund enthält der Probenpuffer der *AESKULISA*® IgM Immunoassays ein spezielles Rf-Absorbent. Die Rf-Absorption erfolgt durch Verdünnen der Patientenprobe im 1x Probenpuffer der *AESKULISA*® IgM Immunoassays und nachfolgender Inkubation für mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur.

8.3.4 Probenlagerung

Die Patientenproben sollten innerhalb von 8 Stunden verwendet und nicht länger als 48 Stunden bei 2–8 °C / 35,6 – 46,4 °F aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung der Proben ist bei ≤ -20 °C / -4 °F möglich. Mehrmaliges Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden.

8.4 Durchführung

8.4.1 Pipettierschema

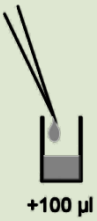
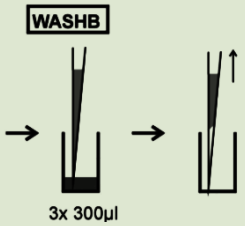
Entsprechend der beabsichtigten quantitativen oder qualitativen Anwendung des *AESKULISA*® Immunoassays wird das nachfolgende Pipettierschema empfohlen:

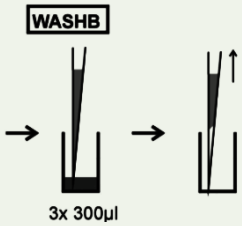
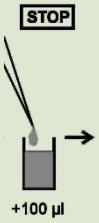
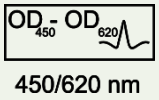
	Quantitative Anwendung						Qualitative Anwendung				
	1	2	3	4			1	2	3	4	
A	CAL A	P3				A	CON–	P5			
B	CAL B	P4				B	CAL B	P6			
C	CAL C	P5				C	CAL B	…			
D	CAL D	P6				D	CON+				
E	CON–	…				E	P1				
F	CON+					F	P2				
G	P1					G	P3				
H	P2					H	P4				

	CAL A	Kalibrator A		CON–	Negativkontrolle
	CAL B	Kalibrator B		CAL B	*cut off* Kontrolle
	CAL C	Kalibrator C		CON+	Positivkontrolle
	CAL D	Kalibrator D			
	CON–	Negativkontrolle			
	CON+	Positivkontrolle			

8.4.2 Testablauf

Erforderliche Anzahl Kavitäten in den Testrahmen einsetzen und Protokollblatt anlegen.
Für die manuelle Prozessierung wird die Anwendung bei Raumtemperatur empfohlen.

Arbeitsschritt	Symbol	Beschreibung
1. Zugabe Kalibratoren, Kontrollen und verdünnte Proben		Zugabe von je 100 µl gebrauchsfertige Kalibratoren, Kontrollen und verdünnte Proben pro Kavität.
2. Probeninkubation		Inkubation für 30 +/- 3 Minuten bei 20–32 °C / 68–89,6 °F.
3. 3 x Waschen		Flüssigkeit aus den Kavitäten absaugen; pro Kavität 300 µl 1x Waschlösung einfüllen, Waschlösung absaugen und Vorgang noch 2x wiederholen; Platte ausklopfen.

4. Zugabe Konjugat		Zugabe von je 100 µl gebrauchsfertige Konjugatlösung pro Kavität.
5. Konjugatinkubation		Inkubation für 30 +/- 3 Minuten bei 20–32 °C / 68–89,6 °F.
6. 3 x Waschen		Flüssigkeit aus den Kavitäten absaugen; pro Kavität 300 µl 1x Waschlösung einfüllen, Waschlösung absaugen und Vorgang noch 2x wiederholen; Platte ausklopfen.
7. Zugabe Substrat		Zugabe von je 100 µl gebrauchsfertige Substratlösung pro Kavität.
8. Substratinkubation		Inkubation für 30 +/- 3 Minuten bei 20–32 °C / 68–89,6 °F, vor intensiver Lichteinstrahlung schützen.
9. Zugabe Stopplösung		Zugabe von je 100 µl gebrauchsfertige Stopplösung pro Kavität in der Reihenfolge der Substratzugabe.
10. Inkubation		Optional: 5 Minuten inkubieren.
11. Mischen		Platte vorsichtig 5 Sekunden schütteln.
12. Analyse		Optische Dichte innerhalb von 30 Minuten bei 450 nm gegen eine empfohlene Referenzwellenlänge von 620 nm messen.

8.5 Durchführung bei automatisierter Anwendung

Die automatische Prozessierung der *AESKULISA*® immunoassays erfolgt analog zur manuellen Anwendung. Der angegebene Testablauf ist einzuhalten. Die *AESKULISA*® Immunoassays sind evaluiert für die Anwendung mit verschiedenen Instrumenten; entsprechende Assayfiles werden auf Anfrage zur Verfügung gestellt. Für die automatische Prozessierung von *AESKULISA*® Immunoassays auf anderen Automaten wird die Evaluierung von Assayfiles durch den Lieferanten des Testkits in Zusammenarbeit mit dem Anbieter des Instruments empfohlen. Die korrekte automatische Prozessierung von *AESKULISA*® Immunoassays muss anschließend durch den Anwender validiert werden.

9 Auswertung *AESKULISA*®

9.1 Standardisierung

Der *AESKULISA*® Rubella Virus IgG wurde am Internationalen Standard RUBI-1-94 der Weltgesundheitsorganisation (WHO) standardisiert. Die quantitativen Ergebnisse werden in IU/ml angegeben. Die Kalibrierung des *AESKULISA*® Rubella Virus IgM erfolgte an einem internen Referenzserum. Die quantitativen Ergebnisse werden in U/ml angegeben.

9.2 Quantitative Auswertung

Grundsätzlich wird die quantitative Auswertung für *AESKULISA*® Immunoassays empfohlen. Zur Generierung der Standardkurve werden die optischen Messsignale (Optische Dichte, OD) der Kalibratoren gegen deren Antikörperaktivität (in IU/ml oder U/ml) aufgetragen. Die Antikörperaktivitäten der Kalibratoren sind auf dem chargenspezifischen Qualitätskontrollzertifikat des *AESKULISA*® angegeben. Eine log/lin Auftragung und ein 4-Parameter Logistik (4 PL) Fit werden zur Auswertung empfohlen. Anhand der generierten Kurve wird aus den optischen Messsignalen der Proben deren korrespondierende Antikörperaktivität abgeleitet.

9.3 Grenzwertbereich

Der Grenzwertbereich des *AESKULISA*® Immunoassays ist auf dem Qualitätskontrollzertifikat angegeben und kennzeichnet den Bereich grenzwertiger Messergebnisse. Die Bewertung einer Patientenprobe unterhalb des Grenzwertbereichs charakterisiert ein negatives Testergebnis; die Bewertung einer Patientenprobe oberhalb des Grenzwertbereichs wird als positives Testergebnis interpretiert. Aufgrund der unterschiedlichen Seroprävalenzen und Impfprogramme in einzelnen Ländern empfehlen wir, den Grenzwertbereich durch eigene Analysen zu verifizieren und ggf. anzupassen.

9.4 Messbereiche

Der Messbereich des *AESKULISA*® Immunoassays ist auf dem Qualitätskontrollzertifikat angegeben. Im Rahmen der Leistungsbewertungsstudie wurden die Verdünnungslinearität der Proben sowie eine hohe Präzision und Reproduzierbarkeit der Messergebnisse in diesem Bereich nachgewiesen. Proben, die Ergebnisse oberhalb des Messbereichs liefern, sollten mit >max bewertet werden. Proben, die Ergebnisse unterhalb des Messbereichs liefern, sollten mit <min bewertet werden. Sollten Patientenproben Messwerte oberhalb des Messbereichs erzielen, können sie in einer höheren Verdünnung erneut analysiert werden. Zur Quantifizierung sind die erhaltenen Antikörperaktivitäten dann mit dem zusätzlichen Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

9.5 Qualitative Auswertung

Die qualitative Auswertung mit *AESKULISA*® Immunoassays erfolgt anhand des Vergleichs der optischen Dichte (OD) der Patientenprobe mit der mittleren optischen Dichte des doppelt aufgetragenen Kalibrators B (*cut off* Kalibrator CAL B). Liegt die optische Dichte der Patientenprobe im Bereich von +/- 20 % des Mittelwerts der optische Dichte des *cut off* Kalibrators CAL B, so ist diese als grenzwertig zu bewerten. Bei einer höheren OD ist die Patientenprobe als positiv, bei einer niedrigeren OD als negativ einzustufen.

9.6 Gültigkeitskriterien

Für einen validen Testlauf müssen die nachfolgenden Gültigkeitskriterien erfüllt sein:

- OD CAL A < 0,3
- OD CAL A < OD CAL B < OD CAL C < OD CAL D
- OD CAL D > 1,3
- Die Negativkontrolle muss negativ bewertet werden.
- Die Positivkontrolle darf nicht negativ bewertet werden.
- Bei quantitativer Anwendung des *AESKULISA*® Immunoassays muss die Positivkontrolle im Gültigkeitsbereich liegen, der auf dem chargenspezifischen Qualitätskontrollzertifikat des *AESKULISA*® angegeben ist.
- Bei qualitativer Anwendung der *AESKULISA*® Immunoassays dürfen die OD Werte des doppelt mitgeführten *cut off* Kalibrators B (CAL B) nicht mehr als 20 % voneinander abweichen.

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

Im Falle eines invaliden Testlaufs sollten die Haltbarkeiten der (gebrauchsfertigen) Reagenzien, die Lagerungsbedingungen, die Inkubationszeiten und –temperaturen, die Pipetten, der Washer inkl. Waschzyklen, das Photometer sowie andere verwendete Geräte überprüft werden. Sollte sich kein Grund für den invaliden Testlauf oder sonstige, abweichende Ergebnisse finden lassen, kontaktieren Sie bitte den Anbieter oder Hersteller des Testkits.

9.7 Interpretation der Ergebnisse

Ein positives Ergebnis im *AESKULISA*® Immunoassay bestätigt das Vorhandensein von spezifischen Antikörpern. Ein negatives Ergebnis zeigt, dass in der Patientenprobe keine klinisch relevante Antikörperaktivität gegen den Erreger vorhanden ist, schließt jedoch eine frische Infektion nicht aus. Im Falle eines grenzwertigen Ergebnisses ist keine sichere Bewertung der Patientenprobe möglich. In einem solchen Fall sollte der Test parallel mit einer, im Abstand von ein bis zwei Wochen entnommenen, neuen Serumprobe (Serumpaar) wiederholt werden.

Eine Primärinfektion geht in der Regel mit der Bildung von IgM und IgG Antikörpern und einer Serokonversion einher. Nach einer Infektion sinkt die IgM Antikörperaktivität in der Regel wieder ab, sie kann aber auch über mehrere Monate persistieren. So können positive IgM Nachweise durch länger persistierendes IgM, durch eine vorangehende polyklonale Stimulierung, durch Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen anderen Krankheitserreger sowie durch Rheumafaktoren bedingt sein. Der alleinige serologische Nachweis von Röteln Virus IgM Antikörpern ist somit nicht beweisend für eine akute Röteln Virus Infektion. Ein positiver IgM Nachweis muss folglich immer durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden. Die für den Immunschutz verantwortliche IgG Aktivität bleibt in der Regel lebenslänglich bestehen.

Grundinterpretationsschema serologischer Ergebnisse

IgM Aktivität	IgG Aktivität	Bewertung
negativ	negativ	Keine spezifischen Antikörper nachweisbar. Bei begründetem Verdacht wird ein weiterer Test nach ein bis zwei Wochen empfohlen.
positiv	negativ / positiv	Hinweis auf eine akute Infektion. Zur Bestätigung werden weitere Untersuchungen empfohlen.
negativ	positiv	Hinweis auf eine zurückliegende Infektion / Latenz.

Die Interpretation der Ergebnisse kann nur im Zusammenhang mit dem klinischen Bild erfolgen. Eine Diagnose sollte nicht allein auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern immer unter Berücksichtigung aller klinischen und laboratoriumsmedizinischen Befunde erstellt werden. Zur Bestätigung sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

10 Leistungsmerkmale *AESKULISA*®

10.1 Analytische Sensitivität und Spezifität

Das Limit of Blank (LoB) wurde durch mehrmalige Analyse von Probenpuffer ermittelt. Das Limit of Detection (LoD) wurde durch mehrmalige Analyse von negativen Proben ermittelt.

	Limit of Blank (LoB)	Limit of Detection (LoD)
AESKULISA® Rubella Virus IgG	0,63 IU/ml	1,29 IU/ml
AESKULISA® Rubella Virus IgM	0,21 U/ml	1,81 U/ml

Die analytische Spezifität der *AESKULISA*® Immunoassays wurde durch Zugabe potenziell interferierender Substanzen zu Proben und Bestimmung deren Einflusses auf die Messergebnisse untersucht. Ein signifikanter Einfluss von Hämoglobin (bis 800 mg/dl), von Bilirubin (bis 20 mg/dl), von Bilirubin-Konjugat (bis 20 mg/dl) und von Triglyceriden (bis 3000 mg/dl) auf Messergebnisse konnte nicht festgestellt werden.

10.2 Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Zur Berechnung der Sensitivität und Spezifität der *AESKULISA*® Rubella Virus IgG und IgM Immunoassays wurden jeweils 180 Seren von Blutspendern und Personen mit Verdacht auf eine Rubella Virus Infektion untersucht und die Ergebnisse mit denen der Rubella Virus IgG und IgM Immunoassays eines führenden europäischen Mitbewerbers verglichen.

	Sensitivität	Spezifität
AESKULISA® Rubella Virus IgG	> 99 %	> 99 %
AESKULISA® Rubella Virus IgM	> 99 %	> 99 %

Zur Berechnung der Sensitivität und Spezifität wurden die grenzwertig eingestuften Ergebnisse nicht berücksichtigt.

10.3 Erwartungswerte

Die Untersuchung von Seren unselektierter Blutspender mit *AESKULISA*® Rubella Virus IgG und IgM ergab folgende Verteilung:

AESKULISA®	Anzahl Proben	negativ	grenzwertig	positiv
Rubella Virus IgG	100	5 (5,0 %)	4 (4,0 %)	91 (91,0 %)
Rubella Virus IgM	100	99 (99,0 %)	0 (0,0 %)	1 (1,0 %)

10.4 Präzision

Zur Ermittlung der Präzision und der Reproduzierbarkeit der Messergebnisse mit *AESKULISA*® Rubella Virus IgG und IgM wurden die Intra- und Interassay sowie die Lot-to-Lot Varianz mit mehreren Proben unterschiedlicher Antikörperaktivität bestimmt.

AESKULISA® Rubella Virus IgG

Probe	Extinktion (OD)	IgG Aktivität	Intraassay VK (IU/ml)	Interassay VK (IU/ml)	Lot-to-Lot VK (IU/ml)
Serum 1	0,308	5,8 IU/ml	5,5 %	6,7 %	11,1 %
Serum 2	0,822	19,0 IU/ml	8,1 %	10,2 %	13,8 %
Serum 3	1,451	43,2 IU/ml	6,4 %	6,4 %	8,9 %
Serum 4	2,090	89,2 IU/ml	5,1 %	6,4 %	10,9 %
Serum 5	2,181	99,6 IU/ml	7,0 %	8,1 %	10,6 %

AESKULISA® Rubella Virus IgM

Probe	Extinktion (OD)	IgM Aktivität	Intraassay VK (U/ml)	Interassay VK (U/ml)	Lot-to-Lot VK (U/ml)
Serum 1	0,259	5,3 U/ml	3,8 %	6,9 %	16,1 %
Serum 2	0,551	12,7 U/ml	5,8 %	8,4 %	11,2 %
Serum 3	0,852	24,2 U/ml	6,5 %	6,7 %	11,3 %
Serum 4	0,911	26,6 U/ml	3,1 %	5,0 %	16,4 %
Serum 5	1,181	36,0 U/ml	6,6 %	6,5 %	10,0 %

Umfangreichere Studienberichte zu weiteren Leistungsparametern wie analytische Sensitivität, analytische Spezifität, Richtigkeit, Präzision, Genauigkeit, Wiederfindung, Linearität, Nachweisgrenzen und zum Messbereich sind auf Anfrage erhältlich.

11 Sicherheitshinweise

11.1 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Die *AESKULISA*® Immunoassays sind ausschließlich zur *in vitro* Diagnostik und nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht. Für die Handhabung der Testreagenzien und der Patientenproben gelten die anerkannten Regeln der guten Laborpraxis. Sollte das Produkt beschädigt sein oder die Produktinformationen - einschließlich der Etikettierung - falsch oder fehlerhaft sein, kontaktieren Sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Testkits.

Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen mit Testreagenzien oder mit Patientenproben gearbeitet wird, nicht essen, trinken oder rauchen. Beim Umgang mit Testreagenzien und Patientenproben direkten Kontakt durch das Tragen von Laborkittel, Einweghandschuhen und Schutzbrille vermeiden. Hände anschließend gründlich reinigen.

Das Produkt enthält Verdünnungen humaner Seren. Obwohl alle eingesetzten Seren negativ auf anti-HIV 1- und 2-Ak, HBsAg (Hepatitis B-Virus-surface Antigen) und anti-HCV-Ak getestet wurden, müssen sie als potentiell infektiös betrachtet werden. Das Produkt enthält weiterhin Bestandteile tierischen Ursprungs. Beim Umgang sind entsprechende nationale Richtlinien zu beachten.

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

Einzelne Komponenten enthalten Natriumazid (NaN_3) als Konservierungsstoff. Natriumazid kann toxisch wirken, sofern es eingenommen oder über die Haut oder Augen adsorbiert wird. Natriumazid kann mit Blei oder Kupferrohren hochexplosive Metallazide bilden. Zur Vermeidung von Azid-Anreicherungen sollte bei der Entsorgung dieser Lösungen mit einer großen Menge Wasser nachgespült werden.

Die Kalibratoren und Kontrollen sowie die Patientenproben sind als potentiell infektiös einzustufen und entsprechend der nationalen Richtlinien zu behandeln. Die Patientenproben und alle potentiell infektiösen Materialien sind nach der Testdurchführung zu dekontaminieren.

Die Reagenzien sind unzugänglich für Kinder aufzubewahren.

Jeder schwerwiegende Vorfall im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats zu melden, in dem der Benutzer und / oder der Patient ansässig sind.

Eine Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung ist sowohl über Eudamed als auch auf Anfrage erhältlich.

11.2 Entsorgung

Zur Dekontamination und Entsorgung beachten Sie bitte die Empfehlungen der CDC sowie die jeweils geltenden lokalen und nationalen gesetzlichen Vorschriften!

12 Referenzen

Dimech, W., Grangeot-Keros, L., Vauloup-Fellous, C. (2016) Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. Clin. Microbiol. Rev. *29*, 163 – 74.

Mankertz, A. (2014) Röteln. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen.

Lambert, N., Strebel, P., Orenstein, W., Icenogle, J., Poland, G. A. (2015) Rubella. Lancet *385*, 2297 – 307.

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 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
	- Rispettare le istruzioni per l'uso	- See instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation	- Ver las instrucciones de uso
	- Gebrauchsanweisung beachten	- Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	- Ver as instrucões de uso	
	- 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	