



Cytoplasm⁶ IgG

Bestellnummer: CY6D-24

1. VERWENDUNGSZWECK

BlueDot Cytoplasm⁶ IgG ist ein Immunodot Kit zum Nachweis (in humanen Seren) von IgG-Autoantikörpern gegen die Antigene M2/nPDC, Jo-1, PL-7, PL-12, SRP-54 und Ribosome P0.

Dieses Kit dient zur Bestätigung von zytoplasmatischen Mustern, die durch Immunfluoreszenz, der Screening- und Referenzmethode bei der Autoimmunität, erhalten wurden; das Kit ist ein Hilfsmittel für die Diagnose verschiedener Autoimmunerkrankungen (mehr Information zu den Autoantikörpern und den Autoimmunerkrankungen, siehe 11.5 Diagnostische Werte der Autoantikörper).

Der Test ist zur Bestätigung bei IFA-positiven Patienten sowie bei IFA-negativen Patienten mit starkem Verdacht auf eine Autoimmunerkrankung vorgesehen.

Dieses Kit ist ausschließlich für die professionelle Anwendung in klinischen Analyselabors bestimmt. Eine vorherige Schulung wird dringend empfohlen (bitte wenden Sie sich an Ihren Verteiler).

Er kann nur manuell auf einem Wippschüttler oder in einem offenen automatischen Immunodot-Verarbeitungssystem verwendet werden, das nach dem in Punkt 9.2 beschriebenen Pipettierschema programmiert ist.

Der Nachweis der verschiedenen IgG-Autoantikörper kann entweder qualitativ (siehe Punkt 10.1) oder semi-quantitativ (siehe Punkt 10.2) erfolgen.

2. TESTPRINZIP

Dieses Kit und alle seine Komponenten sind ausschließlich für die manuelle Verwendung bestimmt.

Der Test basiert auf dem Prinzip eines Enzymimmunoassays. Die Streifen bestehen aus einer Membran, die auf einem Kunststoffträger befestigt ist. Im Testverfahren werden die Streifen mit verdünntem Patientenserum inkubiert. Wenn im Serum Autoantikörper vorhanden sind, binden sie sich an das spezifische Antigen auf der Membran. Nicht gebundene oder überschüssige Antikörper werden im nächsten Schritt durch Waschen entfernt. Anschließend werden mit alkalischer Phosphatase konjugierte humane Anti-IgG-Immunglobuline mit den Streifen inkubiert und binden sich an die Antigen-Antikörper-Komplexe auf der Membranoberfläche. Nach einem zweiten Waschschritt zur Entfernung des überschüssigen Konjugats wird die Chromogen-/Substratlösung zugegeben, was zur Bildung eines unlöslichen gefärbten Produkts (violett) an der Stelle der enzymatischen Reaktion führt. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Menge der im Serum vorhandenen Antikörper.

Das Kit enthält 24 Einwegtests.

3. PACKUNGSSINHALT

Vor Gebrauch bitte erst überprüfen, ob alle angegebenen Teile vorhanden sind und die Eigenschaften des Produkts mit den hier beschriebenen übereinstimmen!

Sollte irgendetwas fehlen oder beschädigt sein, das Kit bitte NICHT benutzen. In diesem Fall wenden Sie sich bitte an Ihren Verteiler!

3.1 BESTANDTEILE

ZU VERDÜNNEN:	(10 x) Waschpufferlösung	1 x 40 ml (farblos) Enthält: H ₂ O • TBS • NaCl • Tween • Konservierungsmittel	
GEBRAUCHSFERTIG:	Teststreifen	24 Stück (Jeder Streifen für einmaligen Gebrauch) Je 8 Punkte: 1 Negativkontrolle (Cut-off) (CO) 6 Antigene 1 Positivkontrolle (Reaction Control) (RC)	
	Verdünnungspuffer	1 x 40 ml (gelb) Enthält: H ₂ O • TBS • NaCl • Tween • BSA • Farbstoff • Konservierungsmittel	
	Konjugat	1 x 40 ml (rot) Enthält: H ₂ O • TBS • NaCl • KCl • MgCl ₂ • AP-konjugiertes Antihuman-IgG aus der Ziege • Farbstoff • Konservierungsmittel	RC — M2-nPDC — Jo-1 — PL-7 — PL-12 — SRP-54 — Ribosome P0 — CO —
	Substrat	1 x 40 ml (braune Flasche, hellgelbe Lösung) Enthält: H ₂ O • Konservierungsmittel • MgCl ₂ • TBS • NBT • BCIP • NBT Stabilisator	
	Inkubationsschalen	3 Stück mit 8 Inkubationsrinnen	

Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge:

AP = alkalische Phosphatase; BCIP = Brom-Chlor-Indolyl-Phosphat; BSA = Rinderserumalbumin; KCl = Kaliumchlorid; MgCl₂ = Magnesiumchlorid; NaCl = Natriumchlorid; NBT = Nitroblau Tetrazolium; TBS = TRIS-gepufferte Kochsalzlösung
Weitere Informationen über die Zusammensetzung und Konzentration der verwendeten Wirkstoffe entnehmen Sie bitte auf Anfrage oder den unter www.d-tek.be erhältlichen MSDS.

Symbole auf den Etiketten der Kits

	Gebrauchsanweisung beachten		CE Kennzeichnung + Benannte Stelle
	In-vitro-Diagnostikum		Für 24 Anwendungen
	Bei 2–8 °C lagern		Referenz
	Chargennummer		Vor direktem Sonnenlicht schützen
	Verwendbar bis		Hersteller
	Kartusche		Vorsicht
	Streifen		

3.2 Im Kit verwendete Antigene

M2/nPDC	E1, E2 und E3 Untereinheiten des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes (gereinigt aus Rinderherz)
Jo-1	Histidyl-tRNA-Synthetase (rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen)
PL-7	Threonyl-tRNA-Synthetase (rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen)
PL-12	Alanyl-tRNA-Synthetase (rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen)
SRP-54	54 kD Untereinheit des Signalerkennungspartikels (SRP) (rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen)
Ribosome P0	Ribosomales P0-Protein (rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen)

3.3 Reaktive Inhaltsstoffe

Substanz	Herkunft	Verwendungszweck in zytoplasmatischen Kits	Konzentration in zytoplasmatischen Kits	Reinheit
Mit alkalischer Phosphatase-konjugiertes Ziege-Anti-humanes-IgG	Tierisch (Ziege)	Sekundärantikörper (Detektionsantikörper) im Konjugatpuffer	< 0,1 µg/ml im Konjugatpuffer	Unbekannt. Kein nachweisbarer Antikörper gegen Nicht-Immunglobulin-Serumkomponenten
M2/nPDC Antigen	gereinigt aus Rinderherz	Biomarker (Antigen), auf Streifen beschichtet	0,04 mg/ml Ein M2/nPDC-Spot = 0,5 µl/Streifen	>80%
Jo-1 Antigen	rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen	Biomarker (Antigen), auf Streifen beschichtet	0,02 mg/ml Ein Jo-1-Spot = 0,5 µl/Streifen	>80%
PL-7 Antigen	rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen	Biomarker (Antigen), auf Streifen beschichtet	0,067 mg/ml Ein PL-7-Spot = 0,5 µl/Streifen	>80%
PL-12 Antigen	rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen	Biomarker (Antigen), auf Streifen beschichtet	0,1 mg/ml Ein PL-12-Spot = 0,5 µl/Streifen	>80%
SRP-54 Antigen	rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen	Biomarker (Antigen), auf Streifen beschichtet	0,067 mg/ml Ein SRP-54-Spot = 0,5 µl/Streifen	>80%
Ribosome P0 Antigen	rekombinant, human, exprimiert in Baculovirus-infizierten Sf9-Zellen	Biomarker (Antigen), auf Streifen beschichtet	0,025 mg/ml Ein Ribosome P0-Spot = 0,5 µl/Streifen	>80%
Protein L	Bakteriell (von <i>Peptostreptococcus magnus</i>)	Reaktive (positive) Kontrolle	0,01 mg/ml Ein RC-Spot = 0,5 µl/Streifen	>95%
Streptavidin-Alkalische Phosphatase	Bakteriell (von <i>Streptomyces avidinii</i>)	Cut-off (negative) Kontrolle	< 0,1 µg/ml Ein CO-Spot = 0,5 µl/Streifen	Unbekannt
NBT-BCIP	Synthetisch (chemische Substanz)	Substrat für alkalische Phosphatase	0,2 mg/ml	≥ 98%

4. ERFORDERLICHE (NICHT ENTHALTENE) MATERIALIEN

Wippeschüttler / Mikropipetten / Timer / Messzylinder / Destilliertes oder deionisiertes Wasser / Pinzetten / Absorptions- und/oder Filterpapier.

5. LAGERUNG

Die angemischte Waschlösung ist bei 2-8 °C mindestens einen Monat haltbar. Reagenzien und Streifen können bei 2-8 °C bis zum Ablaufdatum, das auf jeder Flasche bzw. jedem Röhrchen angegeben ist, aufbewahrt werden.
Legen Sie ungebrauchte Streifen zurück in das mitgelieferte Röhrchen, verschließen Sie es und bewahren Sie es bei 2-8 °C auf. Das Chromogen/Substrat (NBT/BCIP) sollte bei 2-8 °C gelagert werden.
Bei ordnungsgemäßer Lagerung sind alle Bestandteile des Testkits bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

6. VORSICHTSTMASSNAHMEN

- Alle Reagenzien sind nur für In-vitro diagnostische Zwecke und professionellen Gebrauch bestimmt und dürfen nur von Fachpersonal verwendet werden.
- Die Reagenzien des Kits gelten als nicht gefährlich, da die Konzentrationen der potentiell gefährlichen Chemikalien unter den von den europäischen Vorschriften festgelegten Schwellenwerten liegen:

Name	CAS	EINECS	Konzentration im Gemisch	Einstufung (in konzentrierter Form) gemäß Richtlinie/Verordnung EC 1272/2008 Bezeichnung H-Sätze
MIT	55965-84-9	-	< 0,0015 %	Acute Tox. 2 H330 Acute Tox. 2 H310 Acute Tox. 3 H301 Skin Corr. 1 C H314; C ≥ 0,6% Eye Dam. 1 H318; C ≥ 0,6% Skin Sens. 1 A H317; C ≥ 0,0015% A Aquatic Acute 1 H400 Aquatic Chronic 1 H410

Anhang zur Verordnung (EU) 2018/1480 der Kommission; Indexnummer: 613-167-00-5; Verordnung (EU) 2015/830 der Kommission; 3.2.1

Name	CAS	EINECS	Konzentration im Gemisch	Einstufung (in konzentrierter Form) gemäß Richtlinie/Verordnung EC 1272/2008 Bezeichnung H-Sätze
NaN ₃	26628-22-8	247-852-1	< 0.1 %	Acute tox. 2 H300 Acute tox. 1 H310 STOT RE 2 H373 Aquatic acute 1 H400 Aquatic chronic, 1 H410

Annex VI Verordnung (EG) Nr. 1272/2008: Index Nummer: 011-004-00-7; Verordnung (EU) 2015/830 der Kommission: 3.2.1

Name	CAS	EINECS	Konzentration im Gemisch	Einstufung (in konzentrierter Form) gemäß Richtlinie/Verordnung EC 1272/2008 Bezeichnung H-Sätze
NBT	298-83-9	206-067-4	< 0,01%	Acute tox. 4 H302
Name	CAS	EINECS	Konzentration im Streifen	Einstufung (in konzentrierter Form) gemäß Richtlinie/Verordnung EC 1272/2008 Bezeichnung H-Sätze
Nitrozellulose	9004-70-0	-	< 5 %	Flam. Sol. 1 H228

Annex VI Verordnung (EG) Nr. 1272/2008: Index Nummer: 603-037-00-6; Verordnung (EU) 2015/830 der Kommission: 3.2.1

Dennoch enthält das Produkt Konservierungsstoffe, die (in der gegebenen Konzentration) leicht umweltbelastende Eigenschaften haben oder eine Hautsensibilisierung verursachen können. Daher sollte der Kontakt mit der Haut, den Augen oder Schleimhäuten vermieden werden (durch Tragen von Handschuhen, Laborkitteln, Schutzbrillen). Wie bei jeder Chemikalie, die spezifische Gefahren enthält, sollte(n) das Produkt/die Produktkomponenten nur von qualifiziertem Personal und mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden.

- Patientenproben sollten so behandelt werden, als ob sie Infektionskrankheiten übertragen könnten; sie benötigen daher einen geeigneten Schutz (Handschuhe, Laborkittel, Schutzbrille). In jedem Fall sollte die GLP mit allen geltenden allgemeinen oder individuellen Sicherheitsvorschriften angewendet werden.
- Entsorgung: Patientenproben und inkubierte Teststreifen und benutzte Fläschchen sollten als infektiöser Abfall behandelt werden. Die Pappe und die anderen Reagenzien müssen nicht separat gesammelt werden, sofern nicht anders in behördlichen Vorschriften angegeben.
- Das Produkt enthält Substanzen tierischen, menschlichen und bakteriellen Ursprungs (siehe 3.3) in sehr geringer Konzentration. Alle diese Substanzen wurden so ausgewählt, dass sie keine mikrobiellen oder übertragbaren Erreger enthalten und in der im Produkt verwendeten Konzentration nicht toxisch sind. Dennoch ist eine gute Laborpraxis am Benutzerstandort (Schutzbrille, Handschuhe) erforderlich.

7. EMPFEHLUNGEN

- D-tek und seine autorisierten Verteiler können nicht für Schäden verantwortlich gemacht werden, die indirekt oder durch eine Änderung/Modifikation des angegebenen Verfahrens, eine unsachgemäße Verwendung des Kits und/oder die Verwendung eines unvollständigen oder beschädigten Kits, verursacht wurden. Der Gebrauch dieses Kits ist nur qualifiziertem technischen Personal vorbehalten.
- Die Verantwortung von D-tek ist in jedem Fall auf den Ersatz des Kits beschränkt.
- Im Falle eines ernsthaften Zwischenfalls (Verletzung, Verschlechterung der Gesundheit oder Tod) mit diesem IVD-Kit, melden Sie es bitte sofort dem Hersteller (siehe untenstehende Adresse) und der zuständigen Behörde Ihres Landes.

8. ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG DER PROBEN

Der Test darf nur an kürzlich entnommenen Serum-Proben durchgeführt werden. Seren mit Partikeln sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden. Proben können in trockenen Röhrchen abgenommen werden. Die Verwendung eines Pools verschiedener Seren ist zu vermeiden, da dies zu Diskrepanz in den Ergebnissen führen kann (siehe Punkt 10.4). Nach der Trennung sollten die Serumproben sofort verwendet oder aliquotiert und bei 2–8 °C (für maximal 14 Tage) gelagert oder bei -20 °C eingefroren werden (für längere Lagerzeiten, maximal 13 Monate). Wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen der Proben dürfen maximal 10 Zyklen betragen.

9. TESTVERFAHREN

GRUNDLEGENDE INFORMATIONEN, HANDHABUNG UND TIPPS:

Die Antigen- und Kontrollpunkte sind auf den Streifen blau vorgefärbt, um sicherzustellen, dass alle Antigene richtig auf die Membran aufgebracht sind. Diese blaue Färbung verschwindet im ersten Inkubationsschritt. Während der Inkubation mit dem verdünnten Waschpuffer erscheint auf der Membran eine schwache rosa Hintergrundfärbung, die beim Trocknen am Ende der Abarbeitung wieder verschwindet.

Während der Inkubation muss die Schale immer geschüttelt werden, um eine gründliche Zirkulation der Flüssigkeiten über der Membran zu gewährleisten. Ein Wippschüttler ist dafür das geeignete Gerät. Stellen Sie die Amplitude des Schüttlers so ein, dass keine Lösung aus den Rinnen überschwappt oder in benachbarte Rinnen gelangen kann.

Nach jeder Befüllung der Inkubationsrinnen kippen Sie die Inkubationsschale kurz von Hand bis die Streifen vollständig benetzt sind um evtl. anhaftende Luftbläschen unter den Streifen zu entfernen. Alternativ können Sie aufschwimmende Streifen durch Drücken (mit einer Pinzette oder Pipettenspitze) auf die Oberseite der Streifen, jedoch nicht an der Position der Antigene, in die Lösung, untertauchen.

Vermeiden Sie jede Berührung der Membran des Streifens mit den Fingern, Pinzetten oder Pipetten. Fassen Sie die Streifen stets nur an der oberen beschrifteten Kunststoffzone an. Alle Arbeitsschritte sollen bei **Zimmertemperatur (18–25°C)** stattfinden

Beschreibung der KONTROLLEN:

Die **Positivkontrolle oder RC (Reaktionskontrolle)** besteht aus einem Protein (Protein L), das alle in der Testprobe vorhandenen Immunglobuline fixiert. Wenn der Test korrekt durchgeführt wurde, zeigt diese Kontrolle am Ende des Tests eine Färbung (mit einer Intensität, die von der effektiven Konzentration der Immunglobuline in der Probe abhängt).

Das Fehlen einer Färbung dieses Punktes am Ende des Tests kann ein Hinweis darauf sein, dass die Probe nicht auf den Streifen pipettiert wurde (siehe Punkt 10.4 Fehlerbehebung).

Die **Negativkontrolle oder CO (Cut-Off-Kontrolle)** besteht aus einem Protein (Streptavidin, alkalische Phosphatase), das mit dem enzymatischen Substrat und mit bestimmten Bestandteilen der Probe reagiert. Bei korrekter Testdurchführung erscheint diese Kontrolle am Ende des Tests gefärbt, wobei ein von der Kinetik des Substrats und den Eigenschaften der Probe abhängiges Signal ausgegeben wird. Die Intensität dieser Kontrolle dient als Schwellenwert für die Auswertung der Ergebnisse (siehe Punkt 10 AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE).

9.1 Vorbereitung der Reagenzien

1. Lassen Sie vor Gebrauch alle Komponenten Zimmertemperatur (18–25°C) erreichen.
2. Verdünnen Sie die konzentrierte Waschpufferlösung pro Teststreifen.

Beispiel: 1,5 ml konzentrierte Waschpufferlösung + 13,5 ml destilliertes Wasser für einen Streifen.

Ersetzen Sie keine Reagenzien, und mischen Sie keine Streifen mit unterschiedlichen Chargennummern, da dies zu Abweichungen bei den Ergebnissen führen kann.

9.2 Abarbeitung des Tests

1. **Setzen** Sie einen Streifen pro Patienten in die Rinnen, mit den blauen Punkten **nach oben**.
2. **Je 2 ml Waschpufferlösung (verdünnnt)** pro Rinne pipettieren. **10 min Inkubieren (Schütteln)**
*Nach korrekter Inkubation verschwindet die blaue Färbung der Punkte völlig.
Falls nicht, verlängern Sie den Vorgang, bis die Farbe der Punkte vollständig verblasst ist.*
3. **Dekantieren** Sie die Lösung aus den Rinnen.
Drehen Sie die Schale langsam um, bis die Flüssigkeit herausgeflossen ist. Die Streifen bleiben am Boden der Rinnen haften. Trocknen Sie die Kante der Schale auf Zellstoff.
4. **Je 1,5 ml Probenverdünnungspuffer** pro Rinne pipettieren.
5. **Je 10 µl der unverdünnten Patientenprobe pipettieren. 30 min Inkubieren. (Schütteln)**
Berühren Sie die Membran nicht mit der Pipettenspitze. Lassen Sie die Probe am besten über den oberen Teil der Streifen (Kunststoffzone) in die Lösung laufen.
Hinweis: Die Schritte 4 und 5 können durch Vorverdünnen der Probe in einem Glas- oder Kunststoffröhrchen zusammengefasst werden (1,5 ml Lösungsmittel + 10 µl Patientenprobe → Mischen → in die Rinne geben).
6. **Dekantieren** Sie die Lösung aus den Rinnen.
Drehen Sie die Schale langsam um, bis die Flüssigkeit herausgeflossen ist. Die Streifen bleiben am Boden der Rinnen haften. Trocknen Sie die Kante der Schale auf Zellstoff.
7. **3 x 3 Minuten mit je 1,5 ml Waschpufferlösung (verdünnnt) pro Rinne inkubieren (Schütteln)**
Nach jedem Waschvorgang den Puffer durch langsames Umdrehen aus den Rinnen laufen lassen. Die Streifen bleiben am Boden der Rinnen haften. Trocknen Sie die Kante der Schale mit Zellstoff.
8. **Je 1,5 ml Konjugat** pro Rinne pipettieren. **30 min inkubieren (Schütteln)**
9. **Dekantieren** Sie die Lösung aus den Rinnen.
Drehen Sie die Schale langsam um, bis die Flüssigkeit herausgeflossen ist. Die Streifen bleiben am Boden der Rinnen haften. Trocknen Sie die Kante der Schale auf Zellstoff.
10. **3 x 3 Minuten mit je 1,5 ml Waschpufferlösung (verdünnnt) pro Rinne inkubieren** (siehe Schritt 6).
Nach jedem Waschvorgang den Puffer durch langsames Umdrehen aus den Rinnen laufen lassen. Die Streifen bleiben am Boden der Rinnen haften. Trocknen Sie die Kante der Schale mit Zellstoff.
11. **Je 1,5 ml Substrat** pro Rinne pipettieren. **10 min inkubieren (Schütteln)**.
12. **Dekantieren** Sie die Lösung aus den Rinnen.

Drehen Sie die Schale langsam um, bis die Flüssigkeit herausgeflossen ist. Die Streifen bleiben am Boden der Rinnen haften. Trocknen Sie die Kante der Schale auf Zellstoff.

13. **1 x 3 Minuten mit 1,5 ml Waschpufferlösung (verdünnt)** pro Rinne inkubieren (**Schütteln**), um die Reaktion zu unterbrechen.
14. **Entnehmen** Sie die Streifen aus den Rinnen und trocknen Sie diese durch kurzes Andrücken auf Zellstoff oder Filterpapier. Dann noch 30 Minuten trocknen lassen. Das Auswerten muss innerhalb 24 Stunden nach Testverarbeitung erfolgen.

10. AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Eine visuelle (qualitative) Auswertung der Ergebnisse ist möglich, jedoch wird für mehr Präzision und für eine semi-quantitative Auswertung generell die Verwendung des BlueScan-Scanners und der Dr Dot-Software empfohlen.

WICHTIGER HINWEIS: Die Positivität aller Parameter dieses Kits ist NICHT möglich und der Test ist in diesem Fall nicht gültig. Zur Diagnosestellung muss ein zusätzlicher Test durchgeführt werden

10.1 Qualitative Auswertung

1. Ziehen Sie die Abdeckung des Klebstoffs auf der Rückseite jedes Streifens ab und legen Sie die Streifen mit der reaktiven Seite nach oben auf die markierten Felder der Interpretations-Vorlage (zusammen mit dem Kit mitgeliefert). Sie zeigt die jeweiligen Positionen der verschiedenen Antigene und Kontrollen auf der Membran an.
2. Der erste obere Dot (**Positivkontrolle - RC**) muss bei allen Patienten positiv sein.
Nur ein eindeutig gefärbter Positivkontrolldot gewährleistet, dass Ihre Resultate gültig sind und der Test richtig abgelaufen ist bzw. die Einzelkomponenten des Kits nicht beeinträchtigt waren. Ist der erste obere Dot nicht gefärbt, ist der Test ungültig und kann nicht ausgewertet werden.
3. Vergleichen Sie nun die **spezifischen Antigendots** mit dem **Negativkontrolle - CO** (die CO ist immer der letzte Dot auf dem Streifen).
Die Farbintensität der Antigendots ist direkt proportional zum Titer des spezifischen Antikörpers in der Patientenprobe.
Die Farbintensität der CO ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Unter optimalen Bedingungen und sofern die Probe frei von störenden Matrixeffekten ist, kann die CO u.U. fast farblos sein. Im Gegensatz dazu weist eine stark gefärbte CO auf einen hohen Anteil unspezifischer Bindung in der Probe hin.

POSITIVES ERGEBNIS:

Eine Probe ist für einen spezifischen Antikörper positiv, wenn die Farbintensität des zugehörigen Antigendots sichtbar stärker ist als die Intensität des CO-Dots.

NEGATIVES ERGEBNIS:

Eine Probe ist für einen spezifischen Antikörper negativ, wenn die Farbintensität des entsprechenden Antigendots schwächer oder gleich stark wie die Intensität des CO-Dots ist.

Hinweis: die schwache Färbung eines Antigendots, die der Farbintensität des CO-Dots nahekommt, kann durch rein visuelle Prüfung schwer zu unterscheiden sein. In solchen Fällen wird empfohlen, die DrDot-Software und das Scansystem (siehe 10.2) zu verwenden und die entsprechenden Anweisungen für eine genauere Auswertung zu beachten.

10.2 Semi-quantitative Auswertung: Einsatz des Dr Dot Software-und-Scanning-Systems (Achtung: Streifenträger (BlueDiver Clamp) und leere Streifenhalter sind nötig!)

Der BlueScan-Scanner ist ein speziell für das Lesen von D-tek-Immunodot-Streifen entwickeltes System. Er ermöglicht ein präzises und einfaches Einführen der Teststreifen.

Die Dr Dot Software ermöglicht eine Semi-Quantifizierung der Ergebnisse. Ausgehend von gescannten Bildern wird jedes Ergebnis in Grauwerten quantifiziert und mit der im BlueScan Cover integrierten Referenzskala verglichen.

Diese Graustufen-Intensitäten werden transformiert und in *Arbiträren Einheiten (Arbitrary Units (AU))*, von 0 bis 100 wiedergegeben; die arbiträren Einheiten werden gemäß der folgenden Umrechnungsformel, ausgehend von den Intensitäten der auf dem Streifen vorhandenen Kontrollen (RC und CO, siehe Punkt 9), berechnet:

$$\text{Resultat von Antigen X (AU)} = \frac{\text{GraustufenIntensität des Antigen X} - \text{GraustufenIntensität des CO}}{\text{GraustufenIntensität des RC} - \text{GraustufenIntensität des CO}} * 100$$

1. Bereiten Sie einen Streifenträger vor und laden Sie so viele leere Streifenhalter, wie es Streifen zu analysieren gibt. Führen Sie vorsichtig einen Streifen in jeden Streifenhalter ein, wobei der RC nach oben zeigt.
2. Den Streifenträger mit der reaktiven Seite der Streifen nach unten in die dafür vorgesehene Position des BlueScan-Scanners einlegen.
3. Das Scannen der Streifen mit der Dr Dot-Software starten.
4. Die Ergebnisse werden von der Software semi-quantifiziert, und die Auswertung der erhaltenen Werte ist wie folgt

Dr Dot arbiträre Einheiten (AU)	Auswertung
< 5	negativ
5 – 10	equivokal
>10	positiv

Detaillierte Informationen über das BlueScan-System und die Dr Dot-Software erhalten Sie im Nutzungshandbuch der Dr Dot-Software

10.3 Wichtige Empfehlungen für die Auswertung von Ergebnissen

1. Dieses Kit stellt ein diagnostisches *Hilfsmittel* dar. Folglich kann keine Diagnose allein auf der Basis dieses Kits gestellt werden. Die Ergebnisse sollten immer unter Berücksichtigung der klinischen Untersuchung, der Anamnese des Patienten und der mit anderen Methoden erzielten Ergebnisse interpretiert werden.

Es gibt leider keine einzige Technik oder Methode, die die Möglichkeit falsch positiver oder falsch negativer Ergebnisse ausschließen kann. Demzufolge muss vor der Verwendung dieses Kits möglichst ein *indirekter Immunfluoreszenztest* durchgeführt werden (Immunfluoreszenz ist als Referenzmethode in der Autoimmunität anerkannt).

2. Die Intensität eines Ergebnisses gibt nicht unbedingt den Grad der Intensität der Erkrankung an, sondern vielmehr die Höhe der nachgewiesenen Antikörper.
3. Niedrige Titer von Autoantikörpern können bei gesunden Patienten auftreten. Aus diesem Grund sollten niedrig-positive Ergebnisse (nahe der CO, zwischen 5 und 10 AU), obgleich gültig, als equivokal (zweideutig) angesehen werden. In solchen Fällen wird ein erneutes Testen des Patienten, vorzugsweise durch Verwendung einer neuen Probe, empfohlen. Wenn das Ergebnis beim erneuten Test immer noch zweideutig sein sollte, müssen andere diagnostische Tests und/oder klinische Informationen verwendet werden, um den autoimmunen Zustand des Patienten zu bestimmen.
4. Aus verschiedenen Gründen, und unter bestimmten Bedingungen kann das Kit einen Leistungsdefekt aufweisen (siehe 10.4 Fehlerbehebung). In solchen Fällen sind die Ergebnisse nicht gültig und können nicht ausgewertet werden. Es wird empfohlen, den Test zu wiederholen. Sollte der Fehler weiterhin bestehen, wenden Sie sich bitte an Ihren Verteiler.
5. Die Intensität der Ergebnisse kann abnehmen, wenn das Kit am Ende seiner Lebensdauer verwendet wird. Die Leistung des Kits (Erkennung von positiven und negativen Resultaten) wird jedoch unter normalen Gebrauchs- und Lagerungsbedingungen nicht beeinträchtigt.
6. Sequentielle Probennahmen (zu verschiedenen Zeitpunkten) bei einem Autoimmunpatienten können manchmal, von einer Probe zur anderen, zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Dieser Unterschied kann mehrere Gründe haben: die Behandlung des Patienten, die Entwicklung der Krankheit oder eine Serokonversion. Im speziellen Fall einer Serokonversion kann das Ergebnis in einer frühen Probe des Patienten positiv für einen Autoantikörper sein und in einer späteren Probe desselben Patienten positiv für einen anderen Autoantikörper werden.

10.4 Fehlerbehebung

Problem	Möglicher Grund + Lösungen		
Diskrepanz der Ergebnisse im Vergleich zu einer Referenzmethode	<ul style="list-style-type: none"> - Verwendung <ul style="list-style-type: none"> - Falsches Pipettieren von Serum - Falsche Dosiermenge - Verwendung von zwei verschiedenen Proben eines selben Patienten (siehe Punkt 10.3.6) oder falsche Handhabung/Lagerung der Proben zwischen den Tests - Fehlerhafte visuelle Auswertung - fehlerhafte DrDot Ablesung → bitte den Test wiederholen - Material - Methode <ul style="list-style-type: none"> - Störende Substanzen in der Probe - Die Probe ist ein Pool aus verschiedenen menschlichen Seren → bitte den Test wiederholen und durch andere Methoden bestätigen - Intrinsische Leistung des Kits (siehe 11.2 Analytische Sensitivität und Spezifität) - Verfallenes Kit - Stabilitätsproblem <p>Bitte kontaktieren Sie Ihren Distributor für weitere technische Supportanfragen.</p>		
Unterschiedliche Ergebnisse in einer gleichen Charge oder zwischen mehreren Chargen -	<ul style="list-style-type: none"> - Verwendung <ul style="list-style-type: none"> - Falsches Pipettieren von Serum - Falsche Dosiermenge - Fehlerhafte visuelle Auswertung - fehlerhafte DrDot Ablesung → bitte den Test wiederholen - Methode <ul style="list-style-type: none"> - Intrinsische Leistung des Kits (siehe 11.1 Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit) 		
Verunreinigung zwischen benachbarten Streifen	<ul style="list-style-type: none"> - Verwendung <ul style="list-style-type: none"> - Falsches Pipettieren von Serum → bitte den Test wiederholen 		
Schwache (oder fehlende) RC	<ul style="list-style-type: none"> - Verwendung <ul style="list-style-type: none"> - Serum nicht pipettiert → bitte den Test wiederholen - Patient leidet vielleicht an Immunglobulinmangel → bitte den Test wiederholen, um den Patientenstatus zu bestätigen - Beschädigte Reagenzien → die Integrität der Reagenzien prüfen → bitte kontaktieren Sie Ihren Verteiler, falls Sie ein Problem vermuten - Dot nicht auf dem Streifen → Zählen Sie die Anzahl der Dots auf dem Streifen; falls nicht korrekt, wenden Sie sich an Ihren Lieferanten 		
CO fehlend	<ul style="list-style-type: none"> - beschädigte Reagenzien → Überprüfen Sie die Integrität der Reagenzien, kontaktieren Sie Ihren Händler, falls Sie ein Problem vermuten. - Dot fehlt gänzlich auf dem Streifen → Zählen Sie die Anzahl der auf dem Streifen vorhandenen Spots, kontaktieren Sie Ihren Händler im Falle einer falschen Anzahl 		
Unspezifische Bindungen / hoher Hintergrund / hoher CO-Wert	<p>Verdacht auf Anwesenheit einer Kontamination oder einer Störsubstanz in der Patientenprobe → bitte den Test wiederholen und durch eine andere Methode bestätigen</p> <p>Bitte kontaktieren Sie Ihren Distributor für weitere technische Supportanfragen.</p>		
Streifen nicht korrekt etikettiert	Herstellungsproblem → bitte wenden Sie sich an Ihren Verteiler		
Kitinhalt nicht korrekt	Herstellungsproblem → bitte wenden Sie sich an Ihren Verteiler		

Alle Ergebnisse auf dem Streifen sind positiv	Problem mit den Reagenzien → bitte wenden Sie sich an Ihren Verteiler
---	---

HINWEIS:

Die wichtigsten Rest-Risiken des Kits, wie sie in der Risikoanalyse des Kits am Ende des Designs (nach der Abmilderung) angegeben sind, sind wie folgt:

- 1) Risiko auf falsche Ergebnisse aufgrund eines Pipettierfehlers (schlechtes Serum)
- 2) Risiko falscher Ergebnisse aufgrund einer in der Probe enthaltenen Störsubstanz

11. LEISTUNGEN

11.1 Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Referenzproben wurden für jeden Antikörper in aufeinanderfolgenden, statistisch repräsentativen Serien getestet, sowohl im selben Test als auch in verschiedenen Tests und zwischen verschiedenen Chargen, um die Intra-Assay-, Inter-Assay- und Inter-Lot-Variationen zu berechnen.

In allen Fällen lagen die Standardabweichungen der Farbintensität innerhalb der folgenden erwarteten Grenzen:

- CV ≤ 10% für Intra-Assay-Läufe
- CV ≤ 15% für Inter-Assay-Läufe
- CV ≤ 20% für Inter-Charge-Läufen

11.2 Analytische Sensitivität

Messbereich (halb-quantifizierte Ergebnisse): Von 0 AU (negativ) bis 100 AU (hoch positiv).

Nachweisgrenze: Der niedrigste gemessene Wert des Tests beträgt 5 AU (gilt als mehrdeutig gemäß dem Interpretationsalgorithmus, siehe Punkt 10.2).

Da es für die Autoantikörper keine internationale Norm gibt, sind Messgenauigkeit und Linearität bei diesem Produkt nicht anwendbar.

11.3 Analytische Spezifität

1. Die wichtigsten bekannten Störsubstanzen wurden an jedem Biomarker dieses Kits getestet.

Bei jeder getesteten Konzentration der Störsubstanz betrug die Differenz zwischen dem Ergebnis der Probe ohne die Störsubstanz im Verhältnis zum Ergebnis der Probe mit der Störsubstanz nicht mehr als 15%.

Störsubstanz	Höchstkonzentration	Zwischenkonzentration	Mindestkonzentration	Differenz <15%
Bilirubin	100 mg/dL	50 mg/dL	25 mg/dL	Yes
Hämoglobin	200 mg/dL	100 mg/dL	50 mg/dL	Yes
Cholesterin	224.3 mg/dL	112 mg/dL	56 mg/dL	Yes
Rheumafaktor IgM	~500IU/ml	~300IU/ml	~100IU/ml	Yes

Hinweis: Es ist unmöglich, alle in der Literatur beschriebenen möglichen Störsubstanzen zu testen. Andere Interferenzen, u.a. arzneimittelinduzierte Störungen, sind möglich.

2. Die hohe analytische Spezifität des Tests wird durch die Qualität des verwendeten Antigens gewährleistet. Dieses Kit weist IgG-Antikörper gegen M2/nPDC, Jo-1, PL-7, PL-12, SRP-54 und Ribosome P0 nach. Es wurden keine Kreuzreaktionen mit anderen Biomarkern festgestellt.

11.4 Klinische Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität und Spezifität wurden aus kombinierten Ergebnissen berechnet, die aus klinisch definiert positiven und negativen EQAS-Kontrollen sowie aus historischen Daten (externe klinische Bewertung an klinisch definierten positiven und negativen Patienten) gewonnen wurden. Diese charakteristischen Proben (durch Referenzlaboratorien und/oder -methoden bestätigte positive oder negative Proben der jeweiligen Antikörper) wurden entsprechend der Arbeitsanleitung getestet. Sensitivität und Spezifität wurden anhand der Ergebnisse externer Leistungsbewertungen und EQA-Kontrollprogramme berechnet. Ein ausführlicher klinischer Bericht ist auf Anfrage erhältlich.

Sensitivität:			
Der prozentuale Anteil wurde wie folgt berechnet: $\text{Sensitivität} = \frac{\text{richtig pos. Ergebnisse}}{\text{richtig pos. Ergebnisse} + \text{falsch neg. Ergebnisse}}$			
Antigen	richtig positive Ergebnisse	falsch negative Ergebnisse	Sensitivität (%)
M2/nPDC	53	0	>99
Jo-1	17	0	>99
PL-7	1	0	>99
PL12	2	0	>99
SRP-54	21	0	>99
Ribosome P0	15	0	>99

Spezifität:			
Der prozentuale Anteil wurde wie folgt berechnet: $\text{Spezifität} = \frac{\text{richtig neg. Ergebnisse}}{\text{richtig neg. Ergebnisse} + \text{falsch pos. Ergebnisse}}$			
Antigen	richtig negative Ergebnisse	falsch positive Ergebnisse	Spezifität (%)
M2/nPDC	103	0	>99
Jo-1	68	0	>99
PL-7	79	0	>99
PL12	78	0	>99
SRP-54	47	0	>99
Ribosome P0	52	0	>99

Hinweis: Sensitivitäts- und Spezifitätswerte von 100 % beziehen sich ausschließlich auf die in klinischen Bewertungen verwendeten Probenkohorten.

Theoretisch sollte ein Diagnose-Kit nicht als 100 % empfindlich oder spezifisch gelten (mindestens > 99 %).

11.5 Diagnostische Werte der Autoantikörper

Anti-M2/nPDC	<p>Anti-M2/nPDC sind Marker-Antikörper der primär biliären Cholangitis (PBC) und sind in fast 95 % der Fälle nachweisbar. Sie zählen zu den drei diagnostischen Kriterien für PBC. Obwohl sie hochspezifisch für PBC sind, können Anti-M2/nPDC auch bei Patienten mit chronisch-entzündlichen rheumatischen Erkrankungen nachgewiesen werden. Es wird vermutet, dass diese Patienten ein erhöhtes Risiko haben, zusätzlich zur Grunderkrankung eine PBC zu entwickeln. Insbesondere bei der Anti-M2/nPDC-positiven CREST-Variante der systemischen Sklerose besteht ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer PBC (Fregeau et al., 1988; Zurgil et al., 1992). Bei Patienten mit SLE ist das Vorhandensein von Anti-M2/nPDC signifikant mit einer erhöhten Aminotransferase assoziiert (Li et al., 20006).</p> <p>Anti-M2/nPDC sind bei 3-6 % der Patienten mit Autoimmunhepatitis (AIH) Typ 1 nachweisbar. Dabei handelt es sich meist um Fälle eines AIH/PBC-Überlappungssyndroms. Eine AIH/PBC-Überlappung sollte in Betracht gezogen werden, wenn das Verhältnis von ALP zu Aminotransferase weniger als 1,5 beträgt, IgG erhöht ist und die SMA mit einem Titer von mehr als 1:80 vorhanden sind (Bowlus & Gershwin, 2014).</p> <p>Anti-M2/nPDC können prädiktiv sein. Sie können Jahre vor den Manifestationen der PBC auftreten. Personen mit anhaltend hohen Anti-M2/nPDC-Antikörperspiegeln haben ein höheres Risiko, eine PBC zu entwickeln. Prospektive Studien haben gezeigt, dass bei 76 % der asymptomatischen Anti-M2/nPDC-positiven Patienten über einen Beobachtungszeitraum von 11-24 Jahren eine PBC diagnostiziert wird (Metcalf et al., 1996). Die Prävalenz von Anti-M2/nPDC bei Verwandten ersten Grades von PBC-Patienten ist hoch (13,1 %) (Nakamura et al., 2014).</p> <p>Anti-M2/nPDC-Titer verändern sich im Laufe der Zeit nicht und sind nicht mit dem Schweregrad oder dem Fortschreiten der Krankheit verbunden (Benson et al., 2004). Andererseits haben einige Gruppen gezeigt, dass der Anti-M2/nPDC-Titer bei der Behandlung mit UDCA abnimmt (Nakamura et al., 2014).</p> <p>Anti-M2/nPDC bleiben nach einer Lebertransplantation bestehen.</p>
Anti-Jo-1	<p>Diagnostischer Marker für autoimmune idiopathische Myositis. Diagnostische Spezifität von 100%, Sensitivität von 24-30 % für autoimmune idiopathische Myositis.</p>
Anti-PL-7	<p>Diagnostischer Marker für idiopathische Myositis, Sensitivität 2-3%. Assoziiert mit dem Vorhandensein oder der Entwicklung einer interstitiellen Lungenerkrankung.</p>
Anti-PL-12	<p>Diagnostischer Marker für idiopathische Myositis, Sensitivität 2-3%. Assoziiert mit dem Vorhandensein oder der Entwicklung einer interstitiellen Lungenerkrankung.</p>
Anti-SRP-54	<p>Diagnostischer Marker für Polymyositis, Spezifität: 100%, Sensitivität 4-6%. Differentialdiagnostischer und prognostischer Marker: Verlaufsparameter für das schnelle Fortschreiten der proximalen Muskelschwäche</p>
Anti-Ribosome P0	<p>Diagnostischer Marker für Systemischen Lupus erythematoses (SLE) (>99%), gefunden bei 10-35% der Lupus Patienten Prognostischer Marker: mit der Krankheitsaktivität assoziiert Prädiktiver Marker: kann vor klinischen Manifestationen der Krankheit nachgewiesen werden</p>

Veröffentlichungen:

- 1: Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, Garcia de la Torre I, Herold M, Klotz W, Cruvinel WM, Mimori T, von Muhlen C, Satoh M, Chan EK. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis.* 2019 Jul;78(7):879-889. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-214436. Epub 2019 Mar 12. PMID: 30862649; PMCID: PMC6585284.
- 2: Choi MY, Clarke AE, St Pierre Y, Hanly JG, Urowitz MB, Romero-Diaz J, Gordon C, Bae SC, Bernatsky S, Wallace DJ, Merrill JT, Isenberg DA, Rahman A, Ginzler EM, Petri M, Bruce IN, Dooley MA, Fortin PR, Gladman DD, Sanchez-Guerrero J, Steinsson K, Ramsey-Goldman R, Khamashta MA, Aranow C, Alarcón GS, Manzi S, Nived O, Zoma AA, van Vollenhoven RF, Ramos-Casals M, Ruiz-Irastorza G, Lim SS, Kalunian KC, Inanc M, Kamen DL, Peschken CA, Jacobsen S, Askanase A, Stoll T, Buyon J, Mahler M, Fritzler MJ. Antinuclear Antibody-Negative Systemic Lupus Erythematosus in an International Inception Cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019 Jul;71(7):893-902. doi: 10.1002/acr.23712. Epub 2019 Jun 12. PMID: 30044551; PMCID: PMC7268889.
- 3: Li Z, Han R, Yan Z, Li L, Feng Z. Antinuclear antibodies detection: A comparative study between automated recognition and conventional visual interpretation. *J Clin Lab Anal.* 2019 Jan;33(1):e22619. doi: 10.1002/jcla.22619. Epub 2018 Jul 20. PMID: 30030865; PMCID: PMC6430365.
- 4: Satoh M, Chan EK, Ho LA, Rose KM, Parks CG, Cohn RD, Jusko TA, Walker NJ, Germolec DR, Whitt IZ, Crockett PW, Pauley BA, Chan JY, Ross SJ, Birnbaum LS, Zeldin DC, Miller FW. Prevalence and sociodemographic correlates of antinuclear antibodies in the United States. *Arthritis Rheum.* 2012 Jul;64(7):2319-27. doi: 10.1002/art.34380. PMID: 22237992; PMCID: PMC3330150.
- 5: Choi HW, Kwon YJ, Park JH, Lee SY, Chun S, Won EJ, Lee JH, Choi HJ, Kim SH, Shin MG, Shin JH, Kee SJ. Evaluation of a Fully Automated Antinuclear Antibody Indirect Immunofluorescence Assay in Routine Use. *Front Immunol.* 2020 Dec 4;11:607541. doi: 10.3389/fimmu.2020.607541. PMID: 33343581; PMCID: PMC7746920.
- 6: Koh WH, Dunphy J, Whyte J, Dixey J, McHugh NJ. Characterisation of anticytoplasmic antibodies and their clinical associations. *Ann Rheum Dis.* 1995 Apr;54(4):269-73. doi: 10.1136/ard.54.4.269. PMID: 7763103; PMCID: PMC1005572.
- 7: Karsten Conrad, Werner Schössler, Falk Hiepe, Marvin J. Fritzler, Book "Autoantibodies in systemic Autoimmune Diseases", Volume 2, third edition – 2015.



We Apply Science



IFU – Arbeitsanleitung

CY6D-24/p. 9 of 12

12. TESTEINSCHRÄNKUNGEN

1. Die mit diesem Bestätigungstest erzielten Ergebnisse hängen von der intrinsischen Leistung des Kits ab und müssen als Hilfsmittel für die endgültige Diagnose betrachtet werden, wobei die mit einer Referenztechnik erzielten Ergebnisse und die klinischen Daten des Patienten berücksichtigt werden müssen.
2. Hyperlipämischen Proben müssen zuerst zentrifugiert werden, bevor eine 10 µl Probe (aus dem Überstand) pipettiert werden kann.
3. Die 6 verschiedenen Autoantikörper, die mit diesem Kit nachgewiesen werden können, sind die häufigsten und klinisch relevantesten Biomarker, die einem durch Immunfluoreszenz (IFA) erhaltenen zytoplasmatischen Muster entsprechen können, decken jedoch nicht alle möglichen IFA-zytoplasmatischen Muster ab.
4. Im Falle eines Verdachts auf eine spezifische Autoimmunerkrankung können andere krankheitsspezifische Panels verwendet werden, um die Anzahl der relevanten Biomarker zu erweitern.
5. Die Konzentration der Autoantikörper in einer Serumprobe steht nicht in direktem Verhältnis zu den mit dem Produkt erzielten Ergebnissen.
6. Es besteht kein Zusammenhang zwischen der Konzentration der mit dem Produkt nachgewiesenen verschiedenen Autoantikörper und der Schwere der damit verbundenen Autoimmunerkrankungen.

Version F

Letzte Fassung: 09/2025





We Apply Science



2797



IFU – Arbeitsanleitung

CY6D-24/p. 10 of 12



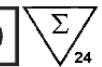
We Apply Science



2797



IVD



IFU – Arbeitsanleitung

CY6D-24/p. 11 of 12





We Apply Science



2797



24

IFU – Arbeitsanleitung
CY6D-24/p. 12 of 12

i