

# BlueWell

## ASCA IgG

Bestellnummer: ASCG02-96

### 1. VERWENDUNGSZWECK

Der BlueWell ASCA (Anti-Saccharomyces Cerevisiae Antikörper) IgG Kit ermöglicht den semi-quantitativen Nachweis von IgG-Antikörper gegen *S. cerevisiae* in menschlichem Serum.

Dieser Kit ist dazu bestimmt, medizinische Beobachtungen zu bestätigen, die durch Darmspiegelung und/oder Ergebnisse der indirekten Immunfluoreszenz mit Abstrichen von Backhefe als Hilfsmittel bei der Diagnose von Morbus Crohn gewonnen wurden (weitere Einzelheiten siehe 11.5 *Diagnostische Werte des Autoantikörpers*).

Der Test ist für eine große Routinepopulation bestimmt. Dieser Kit ist ausschließlich für den professionellen Einsatz in klinischen Analyselabors vorgesehen. Er kann nur manuell oder in einem offenen automatischen ELISA-Verarbeitungssystem verwendet werden, das nach dem unter Punkt 9.2 beschriebenen Pipettierschema programmiert ist.

### 2. TESTPRINZIP

Dieser Kit und alle seine Bestandteile sind für die manuelle Durchführung oder für die Verarbeitung in einem offenen, speziell für die Verarbeitung von ELISA-Platten vorgesehenen Gerät, bestimmt.

Dieser ELISA Kit ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay mit 96 beschichteten, brechbaren, einzelnen Kavitäten und einem Peroxidase-TMB-Nachweissystem. Die Kavitäten sind mit hochspezifischen Antigenen beschichtet.

Im Testverlauf werden Serumproben 1:51 verdünnt und in den Kavitäten inkubiert. Humane Antikörper, falls vorhanden, binden an die spezifischen Antigene. Ungebundene oder überschüssige Antikörper werden durch Waschen entfernt. Anschließend werden HRP-konjugierte Kaninchenantikörper gegen humanes IgG in die Kavitäten pipettiert. Diese Enzym-Konjugat bindet an die Antigen-Antikörper-Komplexe. Nach einem zweiten Waschvorgang zum Entfernen des überschüssigen Konjugats wird die TMB/Substratlösung hinzugegeben. Die Aktivität des Enzyms, falls vorhanden, führt zu einer kolorimetrischen (blauen) Reaktion. Durch Zugabe verdünnter Säure wird die Reaktion gestoppt. In der Folge ändert sich die Farbe von blau zu gelb und kann bei 450 nm/620 nm mit einem handelsüblichen Mikrotiterplattenanalyser bestimmt werden. Die Absorption (optische Dichte) ist direkt proportional zur Konzentration der IgG-Antikörper, die an die Antigene auf der Oberfläche der Kavitäten gebunden sind. Der Kit besteht aus 96 Einwegtests.

### 3. PACKUNGSGEHALT

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

**Sollte irgendetwas fehlen, beschädigt oder nicht konform sein, den Kit bitte NICHT benutzen. In diesem Fall wenden Sie sich bitte an Ihren Verteiler.**

#### 3.1 Bestandteile

<b>Zu verdünnen:</b> <b>20x Waschpufferlösung</b>	<b>1 Fläschchen, 50 ml - 20 x konzentriert (blau)</b> <i>enthält: H<sub>2</sub>O, TBS, NaCl, Tween, Konservierungsmittel, Farbstoff</i>
<b>gebrauchsfertig:</b> <b>Verdünnungspuffer</b>	<b>1 Fläschchen, 50 ml (gelb)</b> <i>enthält: H<sub>2</sub>O, NaCl, TBS, Tween, BSA, Konservierungsmittel, Farbstoff</i>
<b>Substrat</b>	<b>1 Fläschchen, 20 ml (farblos)</b> <i>enthält: H<sub>2</sub>O, TBS, Natriumacetat, Natriumperborat, Stabilisator, EDTA, Konservierungsmittel</i>
<b>Negative Kontrolle</b>	<b>1 Fläschchen, 1 ml (grün)</b> <i>enthält: humanes Serum (verdünnt), Konservierungsmittel, Farbstoff</i>
<b>Kalibratoren</b>	<b>6 Fläschchen, 1 ml jedes 0, 25, 50, 100, 200, 400 U/ml.</b> <b>(Färbung nimmt mit steigender Konzentration zu)</b> <i>enthält: humanes Serum (verdünnt), Konservierungsmittel, Farbstoff</i>
<b>Positive Kontrolle</b>	<b>1 Fläschchen, 1 ml (blau)</b> <i>enthält: humanes Serum (verdünnt), Konservierungsmittel, Farbstoff</i>
<b>Konjugat</b>	<b>1 Fläschchen, 20 ml (rot)</b> <i>enthält: H<sub>2</sub>O, NaCl, TBS, KCl, anti-humanes IgG aus Kaninchen markiert mit Peroxidase, Konservierungsmittel, Farbstoff</i>
<b>Stopplösung</b>	<b>1 Fläschchen, 20 ml (farblos)</b> <i>enthält: Schwefelsäure 2.5 %</i>
<b>Microwellplatte</b>	<b>12 x 8 brechbare Streifen auf einer Plastikplatte</b> <i>Beschichtet mit gereinigtem <i>S. cerevisiae</i></i>

**Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge:**

BSA = Rinderserumalbumin; EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure, HRP = Meerrettichperoxidase, KCl = Kaliumchlorid; NaCl = Natriumchlorid; TBS = Tris-gepufferte Kochsalzlösung; TMB = Tetramethylbenzidin.

Weitere Informationen über die Zusammensetzung und Konzentration der verwendeten Wirkstoffe finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, das auf Anfrage oder unter [www.d-tek.be](http://www.d-tek.be) erhältlich ist.

**Symbole auf den Etiketten der Kits**

	Attention : consult instructions for use Attenzione : consulti le istruzioni per uso Achtung :Gebrauchsanwendung beachten Attention : consulter le mode d'emploi Atención : consultar las instrucciones Atenção : consultar instruções para uso Προσοχή : Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		For ... uses Per ... dosaggi Für ... Anwendungen Pour ... utilisations Para ... usos Para ... utilização για ... χρήσεις
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic medical device Dispositivo medico diagnostico in vitro Zur medizinischen diagnostischen Anwendung in vitro Dispositif médical de diagnostic in vitro Dispositivo médico para uso diagnostico in vitro Dispositivo médico para uso diagnostico in vitro Ιατρικό υλικό για διάγνωση In Vitro	<b>REF</b>	Code Codice Artikelnummer Référence Código Código Κωδικός
	To be stored from 2°C to 8°C Conservazione da 2 – 8°C bei 2°C bis 8°C lagern A conserver de 2°C à 8°C Almacenar a 2 - 8°C Armazenar a 2 – 8°C Αποθηκεύστε στους 2 έως 8°C		Manufactured by Fabbricato da Hergestellt von Fabriqué par Fabricado por Fabricado por Κατασκευάζεται από την
<b>LOT</b>	Batch Number Lotto numero Chargennummer Désignation du lot Denominacion de lote Número do lote Κωδικός		Use by (last day of the month) Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) Verwendbar bis (letzter Tag des Monats) Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) Estable hasta (usar antes de ultimo día del mes) Data limite para utilização (ultimo dia do mês) Χρήση έως (τελευταία ημέρα του μήνα)
<b>CE</b>	CE Mark Marcatura CE CE-Kennzeichnung Marquage CE Marca CE Marcação CE μονογράφιση CE		To be protected from direct sunlight Proteggere dalla luce Vor Licht schützen Protéger de la lumière Proteja de la luz Proteger da exposição à luz Προστατεύετε τον αντιδραστήριο
<b>WELL</b>	Microwell Pozzetti Kavität Barrette Tira para micropocillo Tira com microcavidades Μικροκοιλότητες	<b>CAL ...</b>	Calibrator (... value) Calibratore (... valor) Kalibrator (... Wert) Calibrateurs (... valeur) Calibrador (... valor) Calibrador (... valor) βαθμονομητής (...τιμή)
<b>CONTROL +</b>	Positive control Controllo positivo Positivkontrolle Contrôle positif Controlo positivo Controlo positivo Θετικός μάρτυρας	<b>CONTROL ±</b>	Cut off value Controllo separazione Grenzwertkontrolle Contrôle seuil controllo de corte controlo de redução οριακής τιμής
<b>CONTROL -</b>	Negative control Controllo negativo Negativkontrolle Contrôle négatif Controlo negativo Controlo negativo Αρνητικός μάρτυρας	<b>DIL</b>	Diluent Diluyente campione Verdünnungspuffer Diluant Tampón diluyente Tampão de diluição Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης
<b>WASH ...X</b>	(... x concentrated) wash buffer Tampone di lavaggio (concentrato... x) (... x konzentrierte) Spülpufferlösung tampon de lavage (... x concentré) (... x concentrado) tampones de lavado (... x concentrado) tampão de lavagem (... x συγκέντρωση) Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης	<b>CONJ ...</b>	Conjugate ... Coniugato ... Konjugat ... Conjugué ... Conjugado ... Conjugado ... Συζυγές ...
<b>SUB</b>	Substrate Substrato Substrat Substrat Sustrato Substrato Υπόστρωμα	<b>STOP</b>	STOP solution Soluzione di stop StoppLösung Solution d'arrêt Solución de parada Solução de paragem Διάλυμα διακοπής της αντίδρασης

**3.2 Antigen used**

S. cerevisiae Saccharomyces cerevisiae Phosphopeptido-Mannan (gereinigt aus Saccharomyces cerevisae)

**4. ERFORDERLICHE (NICHT ENTHALTENE) MATERIALIEN PROVIDED**

- Mikrotiterplatten-Lesegerät (450 nm Lesefilter + optional 650 nm Referenzfilter)
- Glaswaren, Reagenzgläser für die Verdünnungen
- Präzisionspipetten
- Wahlweise: Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten (Mehrkanalpipette oder automatisches System)

- Saugfähiges Papier

## 5. LAGERUNG

- Alle Reagenzien und Mikrowellplatten während der gesamten Gültigkeitsdauer bei 2-8°C lagern (siehe Verfallsdatum auf dem Kit). Nicht einfrieren.
- Nach dem ersten Öffnen des Kits müssen unbenutzte Reagenzien bei 2-8°C und vorzugsweise in der Originalverpackung vor (Sonnen-)Licht geschützt gelagert werden. Unbenutzte Mikrotiterstreifen müssen wieder in den mitgelieferten Beutel mit dem Saugpäckchen gelegt, versiegelt und bei 2-8°C gelagert werden, vorzugsweise in der Originalverpackung des Kits. Bei ordnungsgemäßer Lagerung sind alle Bestandteile des Testkits bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Die einmal vorbereitete Waschlösung (siehe 9.2) ist bei 4°C 1 Monat lang haltbar.

## 6. VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Alle Reagenzien sind nur für die In-vitro-Diagnostik und den professionellen Gebrauch bestimmt. Das Testkit sollte nur von qualifiziertem Fachpersonal verarbeitet werden.
2. Das gesamte menschliche Ausgangsmaterial, das für einige Reagenzien dieses Kits (Kontrollen, Kalibratoren) verwendet wird, wurde mit anerkannten Methoden auf HbsAg, Hepatitis C und HIV 1 und 2 Antikörper getestet und für negativ befunden. Kein Test kann jedoch die vollständige Abwesenheit von viralen Erregern in solchem Material garantieren. Daher sind Kit-Kontrollen, Kalibratoren und Patientenproben so zu behandeln, als ob sie in der Lage wären, Infektionskrankheiten zu übertragen.
3. Die Reagenzien des Kits werden als ungefährlich eingestuft, da die Konzentrationen potenziell gefährlicher Chemikalien unter den in den europäischen Vorschriften festgelegten Grenzwerten liegen. Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt des Kits zu entnehmen (erhältlich auf Anfrage oder auf der D-tek Website [www.d-tek.be](http://www.d-tek.be)). Dennoch enthält das Produkt Konservierungsmittel, die (in ihrer jeweiligen Konzentration) leicht umweltschädliche Eigenschaften haben oder eine Sensibilisierung der Haut verursachen können. Daher sollte der Kontakt mit der Haut, den Augen oder den Schleimhäuten vermieden werden. Wie bei jeder Chemikalie, die spezifische Gefahren birgt, sollte das Produkt/die Bestandteile des Produkts nur von qualifiziertem Personal und unter Beachtung der erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden.
4. Patientenproben sollten so gehandhabt werden, als ob sie in der Lage wären, Infektionskrankheiten zu übertragen; sie erfordern daher einen geeigneten Schutz (Handschuhe, Laborkittel, Schutzbrille). In jedem Fall sollte die GLP mit allen geltenden allgemeinen oder individuellen Sicherheitsvorschriften angewendet werden.
5. Abfallbeseitigung: Patientenproben, Kalibratoren und verarbeitete ELISA-Platten sowie gebrauchte Reagenzfläschchen sollten als infektiöser Abfall behandelt werden. Die Kartons und sonstigen Behältnisse müssen nicht getrennt gesammelt werden, es sei denn, die amtlichen Vorschriften sehen etwas anderes vor.

## 7. EMPFEHLUNGEN

1. 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.
2. Die Verantwortung von D-tek ist in jedem Fall auf den Ersatz des Kits beschränkt.
3. 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 sollte nur an kürzlich entnommenen Serum-Proben durchgeführt werden. Seren mit Partikeln sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden. Proben können in trockenen Röhrchen oder in Röhrchen mit EDTA oder Heparin 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 Abtrennung sollten die Serumproben sofort verwendet oder aliquotiert und bei 2-8 °C (für eine mehrtägige Lagerung) oder bei -20 °C eingefroren (für eine längere Lagerung) gelagert werden. Wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen der Proben müssen vermieden werden.

## 9. TESTVERFAHREN

### **Beschreibung der KONTROLLEN und KALIBRATOREN:**

Für die Anti-Cerevisiae-Antikörper gibt es kein Referenzmaterial oder internationale Standards.

Die **Kalibratoren** sowie die **Negativ- und Positivkontrollen** bestehen aus einer hoch positiven Anti-Cerevisiae-Probe, die in serieller Verdünnung hergestellt wird. Die Kalibrationskurve spiegelt die Bindungskinetik der Antikörper an das immobilisierte Antigen wider.

Die **Cut-Off-Kontrolle** ist so kalibriert, dass sie den Schwellenwert für die endgültige Interpretation der Ergebnisse darstellt (siehe 10).

### 9.1 Proben

- Serumproben **1:51** mit Probenpuffer (gebrauchsfertig) verdünnen.  
z. B. **500 µl** Probenpuffer + **10 µl** Serum. Mischen.

### 9.2 Waschpufferlösung

- Konzentrierte Waschpufferlösung 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnen.
  - ❖ **Manuelles Waschen:** 10 ml fertige Lösung für 8 Kavitäten oder 120 ml für 96 Kavitäten.  
z. B. 9.5 ml Wasser + 0.5 ml Puffer. Mischen.
  - ❖ **Automatisches Waschen:** Berücksichtigen Sie eine zusätzliche Menge beim Ansetzen der Lösung für die Instrumenteneinrichtung und für das Totvolumen des Automaten.

### 9.3 Mikrowellstreifen

- Berechnen Sie die Anzahl der für den Ansatz erforderlichen Streifen. Nicht verwendete Streifen aus dem Halter nehmen und im mitgelieferten Kunststoffbeutel fest verschlossen aufbewahren.

### 9.4 Pipettierschema

- Vergewissern Sie sich, dass alle Reagenzien vor dem Gebrauch Zimmertemperatur (18-25°C) erreicht haben.

- **100 µl verdünntes Patientenserum** in die vorgesehenen Streifen pipettieren
- **100 µl Kalibratoren und Kontrollen** in die vorgesehenen Streifen pipettieren.
- **30 Minuten inkubieren** bei Zimmertemperatur (18-25°C).
- **3 x Waschen** mit je **200 µl Waschpufferlösung** (1:20 verdünnt).
- **100 µl Konjugat** in jeden Streifen **pipettieren**.
- **30 Minuten inkubieren** bei Zimmertemperatur (18-25°C).
- **3 x Waschen** mit je **200 µl Waschpufferlösung** (1:20 verdünnt).
- **100 µl Substrat** in jeden Streifen pipettieren.
- **10 Minuten inkubieren** im Dunkeln bei Zimmertemperatur (18-25°C).
- **100 µl Stopplösung** in jeden Streifen **pipettieren** (In derselben Reihenfolge wie das Substrat, um einen Shifteffekt zu vermeiden).
- **Ablesen der Absorption bei 450 nm** (oder 450/650 nm) innerhalb von 30 Minuten.

Hinweis: Wir empfehlen, bei jedem Lauf einen Leerwert in Doppelbestimmung anzusetzen (2 Streifen mit Probenpuffer statt Patientenprobe pipettieren).

#### Manuelles Waschen

Dekantieren Sie die Flüssigkeit durch schnelles Umdrehen der Mikrotiterplatte. Klopfen Sie die Mikrotiterplatte mit den Streifen nach unten fest auf sauberen Zellstoff. Pipettieren Sie 200 µl verdünnte Waschpufferlösung in jede Kavität, warten Sie 20 Sekunden und wiederholen Sie das Dekantieren und Abklopfen. Wiederholen Sie diesen Vorgang noch zweimal.

## 10. ERMITTLUNG UND AUSWERTUNG DER RESULTATE

### 10.1 Semi-quantitative Auswertung auf der Grundlage von Kalibratoren (die die Bindungskinetik widerspiegeln)

Erstellen Sie die Kalibrationskurve, indem Sie die optische Dichte jedes Kalibrators im Verhältnis zu den entsprechenden Einheitenwerten (U/ml) auftragen. Das genaueste Regressionsmodell der Kalibrationskurve ist das Modell der Exponentialassoziation:

$$y = a(1 - e^{-bx})$$

wobei y dem gemessenen OD-Wert und x dem willkürlichen Wert in U/ml entspricht.

Der OD-Wert jeder Probe (y) kann dann anhand der Regressionsgleichung in U/ml (x) berechnet werden.

U/ml	Interpretation
< 20	Negativ
20 – 29	Equivokal
>29	Positiv

### 10.2 Semi-quantitative Auswertung auf der Grundlage des Cut-off-Wertes

Eine einfache, semi-quantitative Auswertung der Resultate kann mit dem **25 Einheiten (U/ml)**-Kalibrator als Cut-Off-Kontrolle vorgenommen werden. Die Resultate werden als Bindungsindex angegeben, dem Verhältnis zwischen der optischen Dichte (O.D.) der Probe und der Cut-Off-Kontrolle:

$$\text{B.I.} = \text{O.D. der Probe} / \text{O.D. der Cut-Off-Kontrolle}$$

Eine Probe ist **negativ**, wenn **B.I. < 1,0**

Eine Probe ist **positiv**, wenn **B.I. > 1,0**

Hinweis: Grenzwertige Proben sollten erneut getestet werden.

### 10.3 Validierung der Resultate

Ein Testdurchlauf gilt als gültig, wenn die nachfolgenden Qualitätsanforderungen erfüllt sind. Falls nicht, überprüfen Sie den gesamten Verfahrensablauf und wiederholen Sie den Test siehe § 10.5. Falls das Problem weiterhin besteht, wenden Sie sich an den Hersteller bzw. Händler für Abhilfe.

	Qualitätskriterien	
	Optische Dichte	U/ml
<b>Leerwert (Probenpuffer)</b>	< 0,100	-
<b>Negative Kontrolle</b>	-	≤ 20
<b>25 U/ml Kalibrator</b>	< 50% des 400 U/ml Kalibratoren	-
<b>Positive Kontrolle</b>	> 0,800	200 – 400

#### 10.4 Wichtige Empfehlungen für die Auswertung von Ergebnissen

- Dieser 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 ELISA Kits möglichst ein indirekter Immunfluoreszenztest durchgeführt werden (Immunfluoreszenz ist als Referenzmethode in der Autoimmunität anerkannt).
- Die Intensität eines Ergebnisses gibt nicht unbedingt den Grad der Intensität der Erkrankung an, sondern vielmehr die Höhe der nachgewiesenen Antikörper.
- Niedrige Titer von Autoantikörpern können bei gesunden Patienten auftreten. Aus diesem Grund sollten niedrig-positive Ergebnisse (nahe der CO, zwischen 20 und 29 U/ml), 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.
- Aus verschiedenen Gründen, und unter bestimmten Bedingungen kann der Kit einen Leistungsdefekt aufweisen (siehe 10.5 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.
- Die Intensität der Ergebnisse kann abnehmen, wenn der 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.
- 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.

#### 10.5 Fehlerbehebung

Problem	Möglicher Grund + Lösungen
Diskrepanz der Ergebnisse im Vergleich zu einer Referenzmethode	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verwendung               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Falsches Pipettieren von Serum</li> <li>- Falsche Dosiermenge</li> <li>- Verwendung von zwei verschiedenen Proben eines selben Patienten (siehe Punkt 10.3.6) oder falsche Handhabung/Lagerung der Proben zwischen den Tests</li> <li>- Falsches Lesen oder ungeeigneter Lesefilter (bitte verwenden Sie 450 nm oder 450/650nm)</li> </ul> </li> <li>- Material               <ul style="list-style-type: none"> <li>→ bitte den Test wiederholen</li> <li>- Störende Substanzen in der Probe</li> <li>- Die Probe ist ein Pool aus verschiedenen menschlichen Seren</li> <li>→ bitte den Test wiederholen und durch andere Methoden bestätigen</li> </ul> </li> <li>- Methode               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Intrinsische Leistung des Kits (siehe 11.2 Analytische Sensitivität und Spezifität)</li> <li>- Verfallener Kit</li> <li>- Stabilitätsproblem</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Bitte kontaktieren Sie Ihren Distributor für weitere technische Supportanfragen.</b></p>
Unterschiedliche Ergebnisse in einer gleichen Charge oder zwischen mehreren Chargen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verwendung               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Falsches Pipettieren von Serum</li> <li>- Falsche Dosiermenge</li> <li>- Falsches Lesen oder ungeeigneter Lesefilter (bitte verwenden Sie 450 nm oder 450/650nm)</li> </ul> </li> <li>- Methode               <ul style="list-style-type: none"> <li>→ bitte den Test wiederholen</li> <li>- Intrinsische Leistung des Kits (siehe 11.1 Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit)</li> </ul> </li> </ul>
Verunreinigung zwischen benachbarten Microwellstreifen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verwendung               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Falsches Pipettieren von Serum</li> <li>- Falsche Dosiermenge</li> <li>→ bitte den Test wiederholen</li> </ul> </li> </ul>
Schwache Reaction/O.D zu tief	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verwendung               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Falsches Lesen oder ungeeigneter Lesefilter (bitte verwenden Sie 450 nm oder 450/650nm)</li> <li>→ bitte den Test wiederholen</li> <li>- Beschädigte Reagenzien</li> <li>→ die Integrität der Reagenzien prüfen</li> <li>→ bitte kontaktieren Sie ihren Verteiler, falls Sie ein Problem vermuten</li> </ul> </li> </ul>

		- Waschpuffer zu schwach und/oder Probe zu stark verdünnt → bitte den Test wiederholen und die Waschpuffer- und Probenvorbereitung korrekt ausführen
Unspezifische Bindungen / hoher Hintergrund / O.D. zu hoch	- Material  - Verwendung	- Verdacht auf Anwesenheit einer Kontamination oder einer Störsubstanz in der Patientenprobe → bitte den Test wiederholen und durch andere Methoden bestätigen  - Waschpuffer zu schwach und/oder Probe zu stark verdünnt → bitte den Test wiederholen und die Waschpuffer- und Probenvorbereitung korrekt ausführen  - zu lange Inkubationszeit oder zu hohe Temperatur → bitte den Test wiederholen
Kit nicht korrekt etikettiert	Herstellungsproblem	→ bitte wenden Sie sich an Ihren Verteiler
Kitinhalt nicht korrekt	Herstellungsproblem	→ 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 für den Antikörper wurden 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-Charge-Variationen zu berechnen.

In allen Fällen lagen die Standardabweichungen der optischen Dichte 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: Von 0 U/ml (negativ) bis 400 U/ml (hoch positiv)

Leerwertgrenze (O.D.) = 0,099.

Da es für den Autoantikörper keine internationale Norm gibt, ist die Messgenauigkeit 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. Dieser Kit weist IgG-Antikörper gegen *S.cerevisiae* nach. Es wurden keine Kreuzreaktionen mit anderen Biomarkern festgestellt.

**11.4 Klinische Sensitivität und Spezifität**

Charakteristische Proben (durch Referenzlaboratorien und/oder -methoden bestätigte positive oder negative Proben des jeweiligen Antikörpers) 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.

<b>S. cerevisiae IgG</b>	
+	-
richtig positiv <b>89</b>	falsch positiv <b>5</b>
falsch negativ <b>16</b>	richtig negativ <b>280</b>
<b>Sensitivität</b>	$\frac{89}{105} = 81\%$
<b>Spezifität</b>	$\frac{280}{285} = 98\%$

Veröffentlichungen:

1. Degenhardt F, Dirmeier A, Lopez R, Lang S, Kunst C, Roggenbuck D, Reinhold D, Szymczak S, Rogler G, Klebl F, Franke A, Rieder F. Serologic Anti-GP2 Antibodies Are Associated with Genetic Polymorphisms, Fibrostenosis, and Need for Surgical Resection in Crohn's Disease. Inflamm Bowel Dis. 2016 Nov;22(11):2648-2657. doi: 10.1097/MIB.0000000000000936. PMID: 27753692; PMCID: PMC5082182.
2. Abu-Freha N, Badarna W, Sigal-Batikoff I, Abu Tailakh M, Etzion O, Elkrinawi J, Segal A, Mushkalo A, Fich A. ASCA and ANCA among Bedouin Arabs with inflammatory bowel disease, the frequency and phenotype correlation. BMC Gastroenterol. 2018 Oct 20;18(1):153. doi: 10.1186/s12876-018-0884-x. PMID: 30342474; PMCID: PMC6195956.
3. Watanabe K, Matsumoto T, Hisamatsu T, Nakase H, Motoya S, Yoshimura N, Ishida T, Kato S, Nakagawa T, Esaki M, Nagahori M, Matsui T, Naito Y, Kanai T, Suzuki Y, Nojima M, Watanabe M, Hibi T; DIAMOND study group. Clinical and Pharmacokinetic Factors Associated With Adalimumab-Induced Mucosal Healing in Patients With Crohn's Disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2018 Apr;16(4):542-549.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2017.10.036. Epub 2017 Nov 11. PMID: 29104132.
4. Xiao N, Liu F, Zhou G, Sun M, Ai F, Liu Z. Food-specific IgGs Are Highly Increased in the Sera of Patients with Inflammatory Bowel Disease and Are Clinically Relevant to the Pathogenesis. Intern Med. 2018 Oct 1;57(19):2787-2798. doi: 10.2169/internalmedicine.9377-17. Epub 2018 May 18. PMID: 29780153; PMCID: PMC6207831.
5. Karsten Conrad, Werner Schössler, Falk Hiepe, Marvin J. Fritzler, Book "Autoantibodies in Organ Autoimmune Diseases", Volume 8, second edition – 2017

**11.5. Diagnostische Werte der Autoantikörper**

Anti-S.cerevisiae	<p>Diagnostischer Marker für Morbus Crohn (Crohn-Krankheit).            Anti-ASCAs haben eine Sensitivität von bis zu 76% und eine Spezifität von bis zu 98% für Morbus Crohn. Die Prävalenz bei Colitis ulcerosa ist gering (2-16%).            Anti-ASCA ist auch bei neu diagnostizierten Zöliakie-Patienten nachweisbar, hauptsächlich bei Erwachsenen (14-30%). Ihr Spiegel sinkt während einer glutenfreien Diät.            Anti-ASCA kann in Fällen von Primärer Biliärer Cholangitis (PBC) (6-24%), primär sklerosierender Cholangitis (PSC) (44%), Morbus Behçet (42%), Spondylarthritis (19-25%) oder bei gesunden Personen (3-10%) nachgewiesen werden.</p>
-------------------	---

**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.



We Apply Science



IFU – Arbeitsanleitung  
ASCG02-96/p. 8 of 8