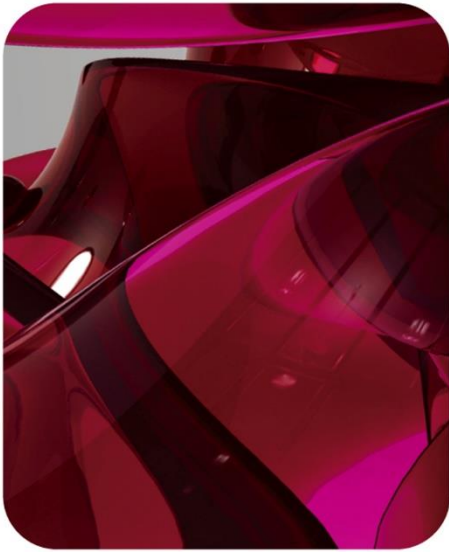




**AESKU**.DIAGNOSTICS  
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



**AESKUBLOTS<sup>®</sup>**  
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# INSTRUCTION MANUAL

**AESKUBLOTS<sup>®</sup> Vasculitis Pro**

*Ref 4002*



Produkt Ref.:	4002
Produkt Name.	Vasculitis-Pro
Versionsnummer.:	007 : 2021-02-9

# Gebrauchsanweisung

## Inhaltsverzeichnis

---

1	Zweckbestimmung .....	1
2	Klinische Anwendung und Testprinzip.....	1
3	KIT Bestandteile .....	2
4	Lagerung und Haltbarkeit.....	2
5	Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen.....	3
6	Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung .....	4
7	Testdurchführung.....	4
8	Qualitative Auswertung .....	8
9	Technische Daten .....	8
10	Leistungsdaten .....	9
11	Literatur .....	9





## 1 Zweckbestimmung

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

Der Test dient der Differentialdiagnose autoimmuner Vaskulitiden.

## 2 Klinische Anwendung und Testprinzip

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

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

### Testprinzip

Die Antigene sind als Linien auf die Nitrozellulosemembran-Streifen aufgebracht. Die Membran ist blockiert, um unspezifische Bindungen zu verhindern. Die Membran-Streifen mit den spezifischen Antigenen werden in den Inkubationswannen mit 1:101 verdünnten Serumproben inkubiert. Hierbei binden spezifische Antikörper aus dem Patientenserum, wenn vorhanden, an das Antigen auf der Membran. Ungebundene Serumkomponenten werden im folgenden Waschschrift gewaschen. Anschließend werden Antikörper gegen humane Immunglobuline, die mit Meerrettich-Peroxidase markiert sind (Konjugat), zugegeben. Während einer Inkubation binden diese an den zuvor gebildeten Antigen-Antikörper-Komplex, nicht gebundene Immunglobuline werden im folgenden Waschschrift entfernt. Der Nachweis gebundener Antikörper erfolgt mit einer enzymatischen Farbreaktion, bei der das farblose Substrat präzipitiert (blau). Die Reaktion wird mit destilliertem Wasser abgestoppt.



### 3 KIT Bestandteile

<b>Vor Gebrauch rekonstituieren</b>				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschlusses	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Blockier-Reagenz	3 x für je 10 ml Konzentrat	weiß	N/A	Magermilchpulver zum Ansatz von 10 ml Probenpuffer
Waschpuffer 20x	1 x 50 ml	weiß	farblos	20-fach konzentriert für 1 L Tris-Puffer, pH 6,9 ± 0,2
<b>Gebrauchsfertig</b>				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschlusses	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Konjugat IgG	1 x 10 ml	blau	farblos	Anti-human Immunglobulin G (IgG) markiert mit Meerrettichperoxidase
Substrat	1 x 10 ml	schwarz	farblos	Stabilisiertes TMB/ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Teststreifen	24 Streifen	Farbkodierung lila	N/A	Aufgebrachte Antigene siehe Zweckbestimmung.
Pinzette, transparente Auswertschablone, Auswertblatt, beidseitig klebendes Etikett (schwarz) zur Streifenfixierung	Je 1 Stück	N/A	N/A	N/A
Inkubationswanne	3 Stück	N/A	N/A	N/A
Etiketten für Probenpuffer	3 Stück	N/A	N/A	N/A
<b>Erforderliche Materialien, nicht im Kit enthalten:</b>				
Wippschüttler, Meßzylinder 1000 ml, Pipette oder Meßzylinder für 10 ml Volumen, Mikropipetten (10, 1000 µl), absorbierendes Papier oder Filterpapier. Unsere Tests wurden für die Verwendung mit gereinigtem Wasser (purified water) nach der Definition der U.S. Pharmakopöe (USP 26 - NF 21) und der Europäischen Pharmakopöe entwickelt (Eur. Ph. 4te Ed.).				

### 4 Lagerung und Haltbarkeit

Die Lagerung der Kitreagenzien und der Membranstreifen soll bei 2-8°C/35-46°F in den Originalflaschen erfolgen. Verdünnte Lösungen sind bei 2-8°C/35-46°F sechs Wochen haltbar. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Kitbestandteile, bei denen das Verfallsdatum überschritten ist, dürfen nicht mehr verwendet werden! Eine starke Lichteinwirkung auf die TMB-Substratlösung ist zu vermeiden.



## 5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

### 5.1 Gesundheitsrisiko

Dieses Produkt darf ausschließlich zur IN VITRO DIAGNOSTIK verwendet werden. Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftsmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders Folgendes eingehalten werden:

#### **Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen**

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

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

Patientenseren sind als potentiell infektiös einzustufen und entsprechend der nationalen Rechtslage zu handhaben.

### 5.2 Allgemeine Hinweise

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

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

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

Blockier-Reagenz und Waschpuffer dürfen zwischen Chargen und Testpackungen ausgetauscht werden. Alle anderen Komponenten sind spezifisch und dürfen nicht ausgetauscht werden. Komponenten dürfen zwischen Autoimmun- und Borrelia Diagnostik-Tests nicht ausgetauscht werden!

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

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

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

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

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



Produkt Ref.:	4002
Produkt Name.	Vasculitis-Pro
Versionsnummer.:	007 : 2021-02-09

Auch Proben offensichtlich gesunder Personen können Autoantikörper aufweisen. Bei erhöhter Konzentration an Immunkomplexen oder anderen Immunglobulin-Aggregaten in einer Probe sind falsch positive Ergebnisse durch nicht spezifische Bindungen nicht auszuschließen.

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

## 6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung

---

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

Nach der Gewinnung sollten Serumproben innerhalb von 8 h verwendet werden, bzw. verschlossen für 48 h bei 2-8°C/35-46°F aufbewahrt werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben bei -20°C/-4°F tiefgefroren werden. Mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben sollte vermieden werden. Keine hitzeinaktivierten (56°C/132,8°F) Serumproben verwenden.

## 7 Testdurchführung

---

### 7.1 Vorbereitung

#### **Verdünnung konzentrierter Reagenzien:**

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

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

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



Produkt Ref.:	4002
Produkt Name.	Vasculitis-Pro
Versionsnummer.:	007 : 2021-02-09

## 7.2 Arbeitsschritte

### Wichtige Hinweise:

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

Teststreifen zwischen den Inkubationsschritten nicht austrocknen lassen.

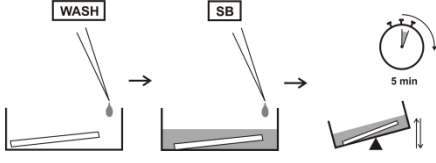
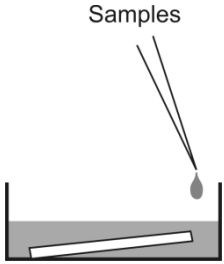
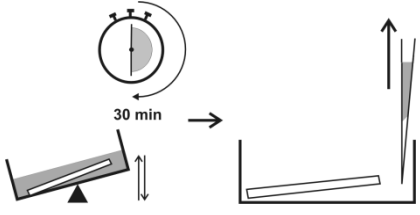
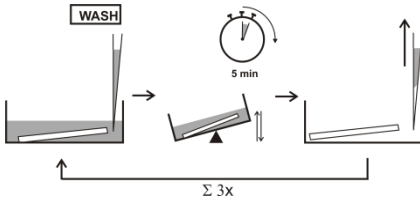
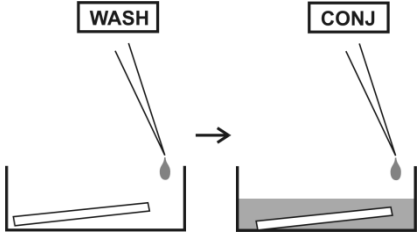
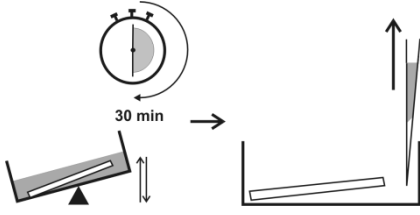
Teststreifen nicht mit der Hand berühren, Pinzette verwenden.

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

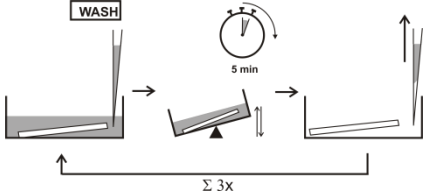
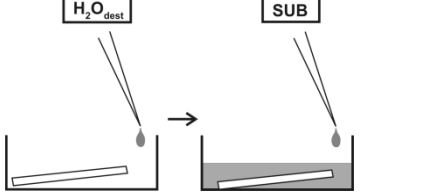
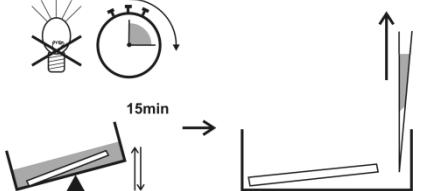
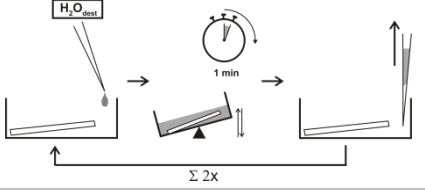
Während der Inkubation Teststreifen kontinuierlich mittels Wippschüttler schütteln.

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



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



8.		<p>3mal für 5 Minuten mit jeweils 1,5 ml Waschlösung unter vorsichtigem Schütteln waschen. Waschlösung nach jedem Waschschrift entfernen.</p>
<b>SUBSTRAT</b>		
9.		<p>700 µl dH<sub>2</sub>O und 300 µl Substrat in jede Kavität pipettieren.</p>
10.		<p>15 Minuten bei 20-32°C/68-89,6°F unter Schütteln inkubieren, vor intensiver Lichteinstrahlung schützen. Substrat entfernen.</p>
<b>STOPP</b>		
11.		<p>2 ml dH<sub>2</sub>O hinzugeben. 1 Minute unter Schütteln inkubieren. dH<sub>2</sub>O entfernen. Diesen Schritt 1mal wiederholen</p>
12.	<p>Streifen aus der Inkubationswanne nehmen und zwischen Filterpapier trocknen.</p>	
13.	<p>Inkubierte Streifen innerhalb von 24 h auswerten.</p>	

**AESKUBLOTS®** Vasculitis Pro ist auch für die automatische Abarbeitung und Auswertung auf dem HELIA® Line Immunoassay Analyzer bestimmt.

Reagenzvorbereitung für HELIA®: Verdünnen Sie 1 Teil Waschpufferkonzentrat (WASH) mit 19 Teilen bidest. Wasser (z.B. 50 mL Waschpufferkonzentrat und 950 mL bidest. Wasser) um gebrauchsfertigen Waschpuffer zu erhalten. Alle anderen, flüssigen Reagenzien sind gebrauchsfertig, für den Einsatz auf dem HELIA®. Eine detaillierte Beschreibung der Testdurchführung finden Sie in der Bedienungsanleitung des HELIA®.



Produkt Ref.:	4002
Produkt Name.	Vasculitis-Pro
Versionsnummer.:	007 : 2021-02-09

## 8 Qualitative Auswertung

---

### 8.1 Manuelle Auswertung

Der Test kann als valide angesehen werden, wenn

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

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

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

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

Die Testergebnisse können auf dem Auswertblatt eingetragen werden.

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

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

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

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

## 9 Technische Daten

---

Probenmaterial:	Serum
Probenvolumen:	10 µl Serum
Gesamt-Inkubationszeit:	112 Minuten bei 20-32°C/68-89.6°F
Lagerung:	bei 2-8°C/35-46°F in Originalflaschen.
Zahl der Bestimmungen:	24 Tests



## 10 Leistungsdaten

### 10.1 Relative Sensitivität und Spezifität

Zur Ermittlung der positiven Übereinstimmung (relative Sensitivität) wurden 50 Seren von IIF oder ELISA positiv getesteten Patienten im **AESKUBLOTS® Vasculitis Pro** untersucht. Um die negative Übereinstimmung (relative Spezifität) zu bestimmen, wurden 170 Seren von Blutspendern analysiert.

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

## 11 Literatur

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






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

**Falk, RJ Jennette JC (1988).** Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. N Engl J Med. 318:1651–1657.

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

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

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

<b>IVD</b>	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	
<b>REF</b>	Numero d'ordine	Catalogue number
	Référence Catalogue	Numéro de catálogo
	Bestellnummer	Αριθμός παραγγελίας
	Número de catálogo	
<b>LOT</b>	Descrizione lotto	Lot
	Lot	Lote
	Chargen Bezeichnung	Χαρακτηρισμός παρτίδας
	Lote	
<b>CE</b>	Conformità europea	EC Declaration of Conformity
	Déclaration CE de Conformité	Declaración CE de Conformidad
	Europäische Konformität	Ευρωπαϊκή συμφωνία
	Déclaração CE de Conformidade	
	24 determinazioni	24 tests
	24 tests	24 pruebas
	24 Bestimmungen	24 προσδιορισμοί
	24 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 instruções de uso	
	Da utilizzarsi entro	Use by
	Utilise avant le	Utilizar antes de
	Verwendbar bis	Χρήση μέχρι
	Utilizar antes de	
	Conservare a 2-8°C	Store at 2-8°C (35-46°F)
	Conservar à 2-8°C	Conservar a 2-8°C
	Lagerung bei 2-8°C	Φυλάσσεται στους 2-8°C
	Conservar entre 2-8°C	
	Prodotto da	Manufactured by
	Fabriqué par	Fabricado por
	Hergestellt von	Κατασκευάζεται από
	Fabricado por	
<b>STRIP</b>	Strip di nitrocellulosa rivestita	Coated nitrocellulose strip
	Strip de nitrocellulose couché	Tira de nitrocelulosa recubierta
	Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebracht Antigenen	Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	Tira de nitrocelulose revestido	
<b>WASH 20x</b>	Tampone di lavaggio	Wash buffer
	Tampon de Lavage	Solución de lavado
	Waschpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	Solução de lavagem	
<b>Block-Reag</b>	Reagente bloccante	Blocking Reagent
	réactif de blocage	Reactivo bloqueante
	Blockier-Reagenz	Αντιδραστήριο αποκλεισμού
	Bloqueio de reagente	
<b>RCNS 10ml</b>	Ricostituire con 10 mL	Reconstitute with 10 mL
	reconstituer avec 10 mL	reconstituir con 10 mL
	rekonstituieren mit 10 mL	Ανασύσταση με 10 mL
	reconstituir com 10 mL	
<b>SB</b>	Tampone campione	Sample buffer
	Tampon Echantillons	Tampón Muestras
	Probenpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	Diluyente de amostra	
<b>CONJ</b>	Coniugato	Conjugate
	Conjugé	Conjugado
	Konjugat	Σύζευγμα
	Conjugado	
<b>SUB</b>	Tampone substrato	Substrate buffer
	Substrat	Tampón sustrato
	Substratpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	Substrato	