

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 1/8
--	---	---

Änderungshinweis	- Methodenumstellung von UNICAP 250 auf BIO-FLASH
------------------	---

Inhaltsverzeichnis

1.	Zweck.....	2
1.1.	Analyt.....	2
1.2.	klinische Bedeutung.....	2
2.	Prinzip des Analysenverfahrens.....	2
3.	Untersuchungsmaterial	3
4.	Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien	3
4.1.	Geräte.....	3
4.2.	Reagenzien.....	3
5.	Durchführung	3
5.1.	Vorbereitung der Reagenzkassette.....	3
5.2.	Kalibrierung.....	5
5.3.	Testablauf	5
5.4.	Berechnung.....	5
6.	Qualitätskontrolle	6
6.1.	Durchführung der Qualitätskontrollen	6
6.2.	Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse.....	6
6.3.	Maßnahmen bei Abweichung.....	6
7.	Beurteilung und Grenzen des Verfahrens	6
7.1.	Angabe von Präzision und Richtigkeit.....	6
7.2.	Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze	6
7.3.	Angabe von Linearität und Spezifikation	7
8.	Ergebnisse und Befundbericht	7
8.1.	Angabe des Ergebnisses	7
8.2.	Referenzbereich.....	7
9.	Hinweise und Störungen	7
10.	Referenzen	8
11.	Anlagen.....	8

	erstellt	geprüft	freigegeben
Datum	11.01.16	14.01.16	14.01.16
Unterschrift			
Name	M. Hauschild	Dr. A. Meyer Laborarzt	S. Arnoldt QM-Beauftragter

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 2/8
--	---	---

1. Zweck

1.1. Analyt

Analyt	EDV-Kürzel
AAK gg. cyclisches citrulliniertes Peptid	CCPA
AAK gg. glomeruläre Basalmembran	ANIE
Cardiolipin-AK IgG, IgM	CAAK, CAAM
AAK gg. β 2-Glycoprotein I IgG, IgM	B2GPG, B2GPM
AAK gg. Gewebstransglutaminase IgA, IgG	GTGLA, GTGLG
AAK gg. deamidiertes Gliadinpeptid IgA, IgG	GIGA, GIGG

1.2. klinische Bedeutung

AK gg. CCP

- Früherkennung und Diagnose-Absicherung der Rheumatoiden Arthritis.

AK gg. glomeruläre Basalmembran

- Die Autoantikörper gegen die Basalmembran der Nierenglomeruli (GBM-Antigene) sind charakteristisch für alle Anti-GBM-Glomerulonephritiden, einschließlich dem Goodpasture-Syndrom (pulmorenales Syndrom) und ANCA-assoziiierter Vasculitis.

AK gg. Cardiolipin und β 2-Glycoprotein I (Antiphospholipid-AK)

- bei Verdacht auf Antiphospholipid-Syndrom oder systemischen Lupus erythematodes
- im Rahmen einer Thrombophilie-Abklärung
- zur Diagnostik bei Schwangerschaftskomplikationen z.B. habituelle Aborte, Tot- oder Frühgeburten

AK gg. Gewebstransglutaminase und Gliadin

- bei Verdacht auf Gluten-sensitive Enteropathie (Zöliakie) oder Dermatitis herpetiformis Duhring (chronische, mit Blasenbildung einhergehende Hautentzündung)
- zur Diagnosestellung bei Diarrhoe, Gewichtsverlust oder Wachstumsstörungen bei Kindern
- im Rahmen der Untersuchung bei Verwandten von Zöliakiepatienten, um eine entsprechende Disposition aufzudecken

Bei Patienten mit einer Gluten-Unverträglichkeit wird durch Verzehr Gluten-haltiger Getreideprodukte eine Schädigung der Dünndarmschleimhaut hervorgerufen
 → Zottenatrophie und funktionelle Störungen z.B. Diarrhoe.

2. Prinzip des Analysenverfahrens

Automatisierter Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA)

Semiquantitativer Nachweis von Autoantikörpern

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 3/8
--	---	---

3. Untersuchungsmaterial

Probenmaterial:	Serum
empfohlene Stabilität:	bei Raumtemperatur 8 Std. stabil bei +2°C bis +8°C bis 2 Tage bei längerer Lagerung bei mindestens -20°C einfrieren
Mindestmenge:	300 µl Serum
Ausschlusskriterien:	stark hämolytisches, lipämisches oder ikterisches Serum meiden

zusätzliches Probenmaterial für Cardiolipin-AK und AK gg. β 2-Glycoprotein: Citratplasma

4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien

4.1. Geräte

- BIO-FLASH Chemiluminometer (PM-SE-117) der Fa. Werfen (INOVA Diagn.)

4.2. Reagenzien

→ der Fa. Werfen (Inova Diagnostics)

- entsprechende QUANTA Flash Reagenzkassetten
 - mit entsprechenden Antikörpern beschichtete paramagnetische Kügelchen bzw. Magnetpartikelsuspension
 - Assaypuffer
 - Tracer, Isoluminol-markierter Anti-Human-IgG-, IgA- bzw. IgM-Antikörper
 - Probenverdünnungspuffer bei Cardiolipin- und β 2-Glycoprotein-AK
- Resuspensionspuffer bei Anti-CCP und AK gg. Gewebstransglutaminase

Reagenzkassette und Resuspensionspuffer bei +2°C bis +8°C aufbewahren, ungeöffnet bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Geöffnete Reagenzkassetten im Gerät belassen. Die BIO-FLASH-Software überwacht die zulässige Verwendungszeit auf dem Gerät und das Verfallsdatum. Das System akzeptiert keine Kassetten nach Ablauf dieser Zeit.

- BIO-FLASH System-Rinse
- BIO-FLASH Trigger
- BIO-FLASH Küvetten

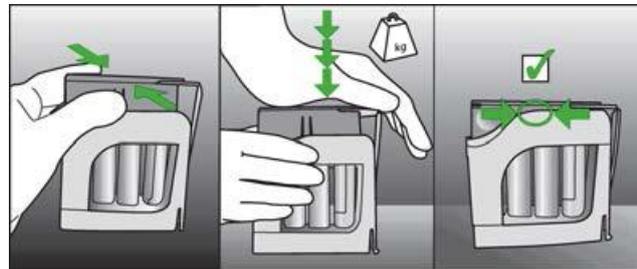
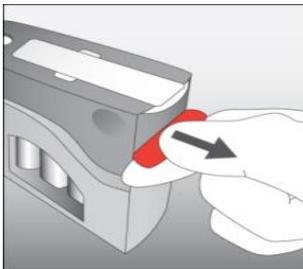
5. Durchführung

5.1. Vorbereitung der Reagenzkassette

→ bei CCP und Gewebstransglutaminase:

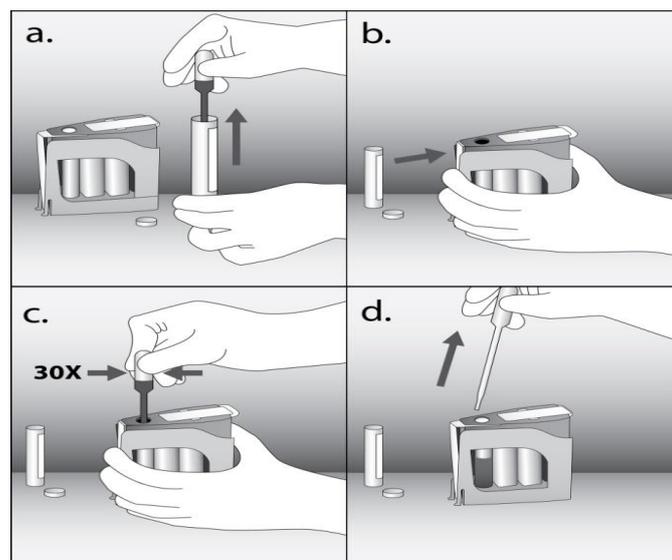
- Kassette auf eine stabile Oberfläche stellen, fest halten und die rote Lasche abziehen
- auf die beiden seitlichen Laschen (grau) drücken und den oberen Teil der Reagenzkassette herunterdrücken, bis sie in die Verschlussposition einrastet (siehe Abbildung)

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 4/8
--	---	---



Resuspendierung der paramagnetischen Kügelchen:

- Luke des Reagenzkassettendeckels in Öffnungsposition schieben
- mit der Einmalpipette den gesamten Inhalt des Resuspensionspuffers in die Reagenzkassette geben
- mit der Einmalpipette den Inhalt mischen (mindestens 30 mal)
- Plakette von der Oberseite der Reagenzkassette lösen, um die anderen drei Öffnungen freizumachen
- Reagenzkassette vorsichtig auf eine freie Position im Gerät stellen

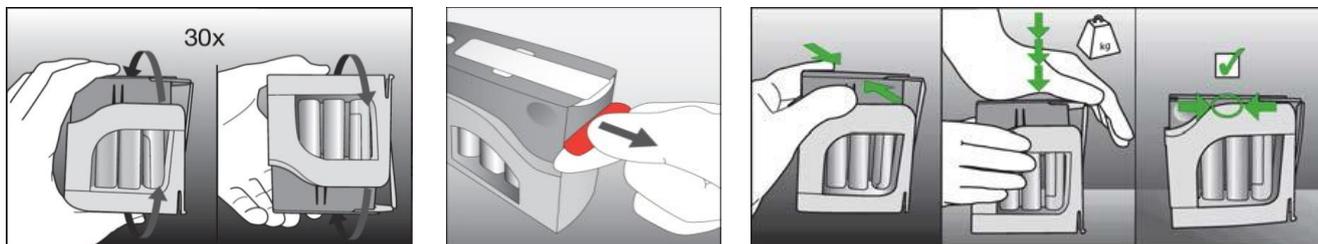


→ bei allen anderen Reagenzkassetten:

Bei Transport und Lagerung können sich die Magnetpartikel absetzen. Vor der ersten Verwendung der Reagenzkassetten die Magnetpartikel durch Mischen wie folgt resuspendieren (siehe auch Abbildung):

- 30 mal die Reagenzkassette über Kopf drehen, bis die Magnetpartikel resuspendiert sind
- Kassette auf eine stabile Oberfläche stellen, fest halten und die rote Lasche abziehen
- auf die beiden seitlichen Laschen (grau) drücken und den oberen Teil der Reagenzkassette herunterdrücken, bis sie in die Verschlussposition einrastet (offene Kassette nicht mehr umdrehen!)
- Reagenzkassette vorsichtig auf eine freie Position im Gerät stellen

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 5/8
--	---	---



5.2. Kalibrierung

- Kalibriert wird wenn :
 - Testreagenzien einer anderen Charge verwendet werden
 - Teile des Systems ausgewechselt wurden
 - Qualitätskontrollen wiederholt außerhalb des zulässigen Bereichs liegen

Kalibratoren: → Hersteller: Fa. Werfen (Inova Diagnostics)
 → jeweils zwei spezifische barcodierte Kalibratoren
 → Kalibratoren vor Gebrauch vorsichtig mischen

Lagerung des Kalibrators:

- gebrauchsfertig, ungeöffnet bei 2- 8°C im Kühlschrank lagern
- Haltbarkeit ist auf den Flaschen gekennzeichnet
- AK gg. CCP; GBM; deamidiertes Gliadinpeptid; Gewebstransglutaminase
- geöffnete Kalibratoren auf dem Gerät 8 Stunden stabil
- AK gg. β 2-GP; Cardiolipine
- geöffnete Kalibratoren auf dem Gerät 3,5 Stunden stabil

5.3. Testablauf

- barcodierte Patientenproben in die Probenracks stellen (Barcode muss lesbar sein)
- bestückte Probenracks auf dem Gerät platzieren
- eingelesene Proben -Tagesnummern kontrollieren und Messung mit ► starten

Genauerer Vorgehen siehe Kurzanleitung Bio-Flash (PA-SE-117)

5.4. Berechnung

Die Berechnung erfolgt automatisch anhand der Kalibrationskurve durch das Gerät. Proben mit einem Wert oberhalb des Messbereichs können mit Hilfe der „Auto-Rerun“-Option mit einer weiteren, vorgegebenen Verdünnung nochmals getestet werden. Die Berechnung erfolgt automatisch.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 6/8
--	---	---

6. Qualitätskontrolle

6.1. Durchführung der Qualitätskontrollen

Für jeden Test entsprechende barcodierte Positiv- und Negativ-Kontrollen (der Fa. Werfen) werden benutzungstäglich mitgeführt, vor Beginn der Messung von Patientenproben.

Die Dokumentation erfolgt in der Labor-EDV.

Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und bei 2-8°C bis zum angegebenen Datum haltbar.

→ geöffnete Kontrollen können 15x für maximal 10 Minuten auf dem Gerät verwendet werden; unmittelbar nach der Messung die Kontrollen vom Gerät nehmen und verschlossen im Originalröhrchen bei 2-8°C aufbewahren

6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse

Nach Prüfung der Kontrollen und der ggf. durchgeführten Kalibration erfolgt die Freigabe der Ergebnisse. Die Kontroll-Werte werden online in die Labor-EDV übertragen.

6.3. Maßnahmen bei Abweichung

Messung von frisch geöffneten Kontrollen, ggf. Neukalibration des Tests.

Bei Fortbestehen zu Rate ziehen des Geräteverantwortlichen bzw. der Service-Hotline

7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens

7.1. Angabe von Präzision und Richtigkeit

siehe Angaben der jeweiligen Produktinformation und Unterlagen der Qualitätskontrolle

7.2. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze

Linearer Messbereich:

- CCP	4,6 – 2776,7 CE = 1,22 – 736 IE/ml
- Cardiolipin IgG	2,6 – 2024,0 U/ml
- Cardiolipin IgM	1,0 – 774,0 U/ml
- β 2-Glycoprotein IgG	6,4 – 6100,0 U/ml
- β 2-Glycoprotein IgM	1,1 – 841,0 U/ml
- Gewebstransglutaminase IgA	1,9 – 4965,5 CE
- Gewebstransglutaminase IgG	3,8 – 2560,0 CE
- Gliadin ^{DP} IgA	5,2 – 2367,3 CE
- Gliadin ^{DP} IgG	2,8 – 1936,7 CE
- glom. Basalmembran	2,9 – 1437,8 CE

Proben mit einem Wert oberhalb des Messbereichs können mit Hilfe der „Auto-Rerun“-Option mit einer weiteren, vorgegebenen Verdünnung nochmals getestet werden.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 7/8
--	---	---

7.3. Angabe von Linearität und Spezifikation

- siehe Angaben in den jeweiligen Produktinformationen

8. Ergebnisse und Befundbericht

8.1. Angabe des Ergebnisses

CCP (Umrechnung von CE in IE/ml : x 0,264) → IE/ml
Cardiolipin, β 2-Glycoprotein, Gewebstransglutaminase und Gliadin → U/ml
glomeruläre Basalmembran → U/ml

→ CE (Chemilumineszenz-Einheiten) = U/ml

8.2. Referenzbereich

für CCP

< 5,3 IE/ml (< 20 CE) negativ
≥ 5,3 IE/ml (≥ 20 CE) positiv

für Cardiolipin-AK, β 2-Glycoprotein I

≤ 20 U/ml negativ
> 20 U/ml positiv

für glomeruläre Basalmembran

< 20 U/ml negativ
≥ 20 U/ml positiv

für Gewebstransglutaminase und Gliadin

< 20 U/ml negativ
20 – 30 U/ml schwach positiv
> 30 U/ml positiv

9. Hinweise und Störungen

- Eine definitive klinische Diagnose kann nicht allein auf Basis eines positiven Ergebnisses gestellt werden. Die Ergebnisse der Tests sind nur gemeinsam mit den klinischen Befunden zu betrachten
- Ein unzureichendes Mischen der Reagenzien vor der ersten Verwendung kann zu falschen Ergebnissen führen
- Cardiolipin IgG (mögliche Umrechnung: von CE in ng/ml: x 16,3)
- Cardiolipin IgM (mögliche Umrechnung: von CE in ng/ml: x 65,1)

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<p style="text-align: center;">Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Autoantikörper am BIO-FLASH</p>	Dokument: SA-SE-AKBIO Version: A Seite: 8/8
--	--	---

10. Referenzen

- Conrad, Sack, Meurer, Fritzler, Shoenfeld „From Proteomics to Molekular Epidemiology: Relevance of Autoantibodies“ 2002
- „Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen“ Conrad, Schößler, Hiepe 2001
- M. Barthels, M. von Depka „Das Gerinnungskompndium“ 2003
- Gressner, Arndt „Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik“ Band 1 2007
- L. Thomas „Labor und Diagnose“ 8. Auflage 2012
 - CCP S. 1456 ff.
 - AK gg. glomer. Basalmembran (GBM) S. 1496 ff.
 - Cardiolipin-AK, AK gg. β 2-Glycoprotein I (Antiphospholipid-AK) S. 1459 ff.
 - AK gg. Gewebstransglutaminase und Gliadin S. 1508 ff.

11. Anlagen

Produktinformationen der Fa. Werfen (Inova Diagnostics)
Vergleichsmessungen