



## **RELISA<sup>®</sup> CARDIOLIPIN ANTIKÖRPER-SCREENING-TEST**

**Nur Zur in vitro-Diagnostik**

**Für Professionellen Gebrauch**

**Katalognummer: 7096-01 (96 Kavitäten) und 7696-01 (576 Kavitäten)**

*BEABSICHTIGTER VERWENDUNGSZWECK: Bei diesem Produkt handelt es sich um ein Enzym-Immuntestsystem zum qualitativen Nachweis von IgG-, IgA- oder IgM-Antikörpern gegen Cardiolipin in humanem Serum. Die mit diesem Testsystem erzielten Ergebnisse können zur Einschätzung des Risikos von Thrombosesstörungen bei Patienten mit systemischem Lupus erythematosus oder Lupus-ähnlichen Syndromen herangezogen werden.*

### **ZUSAMMENFASSENDE ERKLÄRUNG DES TESTS**

Antiphospholipide Antikörper, zu denen Anticardiolipin-Antikörper gehören, sind im Serum von Patienten mit systemischem Lupus erythematosus häufig nachzuweisen (1). In zahlreichen Berichten werden diese Autoantikörper mit verschiedenen venösen und arteriellen Thrombosesstörungen, einschließlich zerebralem Infarkt (2), tiefer venöser Thrombose (3), Thrombozytopenie (1), Lungenembolie (4) und wiederholtem Verlust des Fötus mit Infarkt der Plazenta (5) in Verbindung gebracht. Unter „Lupus-Antikoagulans“ (6) versteht man eine Substanz, die einen aktivierten partiellen Thromboplastintest in vitro verlängert. Es wird ebenfalls mit den genannten klinischen Syndromen in Verbindung gebracht, ist jedoch nicht identisch mit Anticardiolipin-Antikörper. Die Termini „Lupus-Antikoagulans“ und „antiphospholipide Antikörper“ werden bisweilen fälschlicherweise synonym gebraucht, obwohl sich diese Immunoglobuline unterscheiden (1).

Bei diesem Testsystem von Immuno Concepts handelt es sich um einen Enzym-Immuntest in Mikrotiterplatten zum Nachweis von Anticardiolipin-Antikörpern in humanem Serum. Es ist bereits erwiesen, dass Festphasenimmuntests eine extrem sensible und spezifische Methode zum Nachweis von Anticardiolipin-Antikörpern darstellen (7-10). Das Testsystem von Immuno Concepts entspricht den international anerkannten, vom Antiphospholipid Standardization Laboratory vorgegebenen „Harris-Standards“ (9). Die mit diesem Test erzielten qualitativen Ergebnisse erbringen den Nachweis über das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen Cardiolipin.

### **FUNKTIONSWEISE DES TESTS**

Dieser Test ist ein qualitativer, indirekter Enzym-Immuntest. Die Oberfläche der Mikrotiterplatten wurde mit einer stabilisierten Cardiolipin-Präparat beschichtet, das im System als Antigen dient. Kalibratorserum, Kontrollseren und verdünnte Patientenproben werden in die Kavitäten gegeben und inkubiert, so dass in der Probe vorhandene Anticardiolipin-Antikörper mit dem gebundenen Antigen in der Festphase reagieren können. Nicht gebundene Antikörper und andere Serumproteine werden abgewaschen und anschließend werden die Kavitäten mit antihumanen Antikörpern (Ziege) inkubiert, die mit Meerrettich-Peroxidase markiert sind. Das im Testsystem enthaltene Meerrettich-Peroxidase-konjugierte Antikörper-Präparat dient zum Nachweis von humanem IgG, IgA, und/oder IgM, kann diese aber nicht unterscheiden. Für den spezifischen Nachweis und die Semiquantisierung von IgG- und IgM-Anticardiolipin-Antikörpern verwenden Sie bitte den Immuno Concepts RELISA<sup>®</sup> Cardiolipin IgG- & IgM-Antikörpertest, Katalognummer 7096-02.

Nach der Inkubation mit dem Meerrettich-Peroxidase-Konjugat wird in positiven Proben ein dreiteiliger Komplex gebildet. Dieser besteht aus einem Meerrettich-Peroxidase-konjugierten antihumanen Antikörper, gebunden an einen humanen Anticardiolipin-Antikörper, der wiederum an das auf der Plastikoberfläche stabilisierte Cardiolipin gebunden ist. Nach einem weiteren Waschvorgang wird dieser Komplex durch Addition einer Lösung aus Tetramethylbenzidin (TMB) und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als chromogenes Substrat nachgewiesen. Der Grad der Farbentwicklung in den Kavitäten ist proportional zur Konzentration von Anticardiolipin-Antikörpern in den Serumproben.

Jede Kavität wird in einem Spektrophotometer analysiert. Die Resultate ergeben sich aus dem Vergleich zwischen den Absorptionswerten der Kalibratorkavitäten und der Probenkavitäten.

## SYSTEMKOMPONENTEN - IM LIEFERUMFANG

**Aufbewahrung:** Sämtliche Komponenten sollten bei 2-10°C im Kühlschrank aufbewahrt werden. Nicht einfrieren.

**Haltbarkeit:** Alle Komponenten sind bis mindestens 12 Monate nach Herstellungsdatum haltbar. Keine Komponenten nach Überschreiten des Verfallsdatums verwenden.

### REAKTIVE REAGENZIEN

**Mit Cardioliplin beschichtete Mikrotiterplattenstreifen [PLATE]:** Katalognummer 7008-01. Ein Mikrotiterplattenrahmen mit zwölf Streifen je acht Kavitäten, beschichtet mit einer stabilisierten Lösung aus Diphosphatidyl-Glycerol (Cardioliplin) aus Rinderherz. Wenn weniger als acht Kavitäten für den Ansatz benötigt werden, können einzelne Kavitäten abgetrennt werden. Unbenutzte Streifen können im Folienbeutel mit Trocknungsmittel verpackt und mit Klebestreifen versiegelt bis zu 45 Tage im Kühlschrank aufbewahrt werden.



**Probenverdünner [SOLN|DIL]:** Katalognummer 7100 (100 ml). Spezieller gepufferter Probenverdünner zur Verdünnung der Patientenproben. Enthält Apolipoprotein-H-Cofaktor.



**Anticardioliplin-Antikörper-Positivkontrollserum [CONTROL|+]:** Katalognummer 7021-01. Fläschchen mit 2 ml gebrauchsfertigem Human-Anticardioliplin-Positivkontrollserum. Dieses Serum enthält IgG-, IgM- oder IgA-Anticardioliplin-Antikörper. Das Serum zeigt in diesem Test eine stark positive Farbentwicklung.

**Anticardioliplin-Antikörper-Negativkontrollserum [CONTROL|-]:** Katalognummer 7031-01. Fläschchen mit 2 ml gebrauchsfertigem Human-Anticardioliplin-Negativkontrollserum. Dieses Serum zeigt in diesem Test keine Farbentwicklung.

**Anticardioliplin-Antikörper-Kalibratorserum [CAL]:** Katalognummer 7026-01. Fläschchen mit 2 ml gebrauchsfertigem Human-Anticardioliplin-Positivkalibratorserum. Dieses Serum enthält IgG- und IgM- Anticardioliplin-Antikörper. Dieses Kalibratorserum liefert den Grenzwert für den Test.

**Enzym-Antikörper-Reagens - spezifisch für humanes IgG, IgA und IgM [CONJ|HRP]:** Katalognummer 7009-01 (14 ml). Polyvalentes Anti-Human-IgG, -IgM und -IgA, an Meerrettich-Peroxidase (HRP) konjugiert. Gebrauchsfertiges Reagens.

**Substratlösung [SOLN|SUB]**   : Katalognummer 7035 (14 ml). HRP-spezifische Enzymsubstratlösung, enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) und Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Gebrauchsfertiges Reagens. **ACHTUNG:** Entzündlich. Dieses Reagenz enthält weniger als 25% Methanol und Azeton. Es darf nicht in die Hände von Kindern gelangen. Bei Kontakt mit den Augen sofort gründlich mit Wasser ausspülen und einen Arzt aufsuchen.

**Stopplösung [SOLN|STOP]**   : Katalognummer 7033 (14 ml). Spezielle Stopplösung für EIA-Testsysteme von Immuno Concepts. Gebrauchsfertiges Reagens. **GEFAHR:** Korrosiv. Dieses Reagens enthält Chlorwasserstoff- und Schwefelsäure (jeweils weniger als 3 % Volumenanteil) und sollte mit Vorsicht gehandhabt werden. Für Kinder unzugänglich aufbewahren. Bei Kontakt mit Augen, sofort und gründlich mit Wasser ausspülen und einen Arzt konsultieren. Dieses Reagens niemals mit Wasser verdünnen.

### NICHT-REAKTIVE KOMPONENTEN

#### Streifenhalter

**PBS-Waschpuffer [PWDR|PBS]:** Katalognummer 1011. Phosphat-gepuffertes Kochsalzpulver (0,01 M, pH 7,4 ± 0,2). Jeder Beutelinhalt reicht für 1 Liter gebrauchsfertigen Puffer. Zwei Beutel je 96er-Mikrotiterplatte sind im Lieferumfang des Testkits enthalten.

**Herstellung:** Einen Beutel Pulver in 1 Liter deionisiertem oder destilliertem Wasser auflösen und speichern Sie zwischen 2-25°C bis zu 4 Wochen aufbewahren, oder bis Anzeichen von Kontamination oder andere sichtbare Veränderungen zu erkennen sind. ZU DIESEM PUFFER KEIN TWEEN 20 ODER ANDERE DETERGENZIEN HINZUFÜGEN.

# ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN - NICHT MIT GELIEFERT

Präzisionspipetten für Volumina von 10-1000 µl  
Spritzflasche für die Zugabe von Waschpufferlösung in die Kavitäten der Mikrotiterplatte, oder automatisches Waschsysteem für Mikrotiterplatten  
1-Liter-Behälter für den PBS-Waschpuffer  
Deionisiertes oder destilliertes Wasser  
Spektrophotometer für Mikrotiterplatten für Absorptionsmessungen bei 450 nm  
Teströhrchen zur Herstellung von Serumverdünnungen  
Saugpapier oder Papierhandtücher  
Mehrkanal-Pipette für bis zu 8 Kavitäten  
Einmalhandschuhe  
Laborstoppuhr

## SICHERHEITSHINWEISE

1. Sämtliche für dieses Produkt verwendeten Materialien menschlichen Ursprungs wurden nach von der FDA anerkannten Methoden negativ (nicht wiederholt reaktiv) auf Antikörper gegen HIV-1, HIV-2, Hepatitis-C (HCV) und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) getestet. Keine Testmethode kann jedoch mit absoluter Sicherheit nachweisen, dass keine HIV-1, HIV-2, Hepatitis-C oder Hepatitis-B-Viren oder andere infektiöse Agenten vorhanden sind. Daher sollten alle Kitbestandteile wie potenziell infektiöse Materialien gehandhabt werden.
2. Alle Kontrollseren, Kalibratorseren und Patientenproben sollten nach den Anforderungen für Biosafety Level 2 behandelt werden, wie für potenziell infektiöses humanes Serum und andere Blutbestandteile empfohlen in: Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999 Edition*.
3. Die Kontroll- und Kalibratorseren enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid (0,09%). Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferinstallationen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen der Reagenzien mit reichlich Leitungswasser nachspülen, damit im Abfluss keine Rückstände verbleiben. Natriumazid ist giftig und kann bei Verschlucken toxisch wirken.
4. Ein Verdünnen der Bestandteile oder eine Zugabe von nicht zum Kit gehörenden Reagenzien kann die Qualität der Ergebnisse beeinträchtigen.
5. Die für Anticardiolipin-Tests vorgesehenen Serumproben nicht durch Hitzeeinwirkung deaktivieren. Inaktivierung durch Hitze kann erhöhte Werte zur Folge haben.
6. Das Kit ist ausschließlich zur *In vitro*-Diagnostik bestimmt.
7. Niemals mit dem Mund pipettieren und Kontakt der Reagenzien mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt mit viel Wasser und desinfizierender Seife waschen.
8. In Bereichen, in denen mit Patientenproben oder Kitreagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
9. Verspritzen von Reagenzien und Erzeugung von Aerosolen vermeiden.
10. Die angegebenen Inkubationszeiten und Temperaturwerte genau einhalten, andernfalls könnten die Ergebnisse verfälscht werden.
11. Eine Kreuzkontamination der Reagenzien oder Proben kann ebenfalls zu falschen Ergebnissen führen. Während der Tests müssen die Proben in den Kavitäten der Mikrotiterplatten verbleiben.
12. Wiederverwendbare Glasartikel müssen vor Gebrauch gewaschen und gründlich ausgespült werden, um sämtliche Waschmittelrückstände zu entfernen. Die Glasartikel müssen vor Gebrauch sauber und trocken sein.
13. Vor der Testdurchführung müssen alle Reagenzien, Mikrotiterstreifen und Proben auf Zimmertemperatur (18-25°C) gebracht werden.
14. Beim Arbeiten mit Proben und Reagenzien sind grundsätzlich Einmalhandschuhe zu tragen. Danach gründlich Hände waschen.
15. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien oder Proben kann das Ergebnis verfälschen.
16. Das Stoppreagens ist korrosiv und kann Verbrennungen verursachen. Dieses Reagens enthält Chlorwasserstoff- und Schwefelsäure (jeweils weniger als 3 % Volumenanteil) und sollte mit Vorsicht gehandhabt werden. Für Kinder unzugänglich aufbewahren. Bei Kontakt mit Augen, sofort und gründlich mit Wasser ausspülen und einen Arzt konsultieren. Dieses Reagens niemals mit Wasser verdünnen.

## PROBENGEWINNUNG

**Probenahme:** Nach Möglichkeit sollten Serumproben hergestellt werden. Dazu durch Venenpunktion in ein steriles Vakuümröhrchen oder durch ein anderes geeignetes Blutentnahmesystem aseptisch ca. 5 ml Vollblut entnehmen. Das Blut bei Zimmertemperatur (18-25°C) gerinnen lassen. Danach muss das Serum so bald wie möglich durch Zentrifugation abgetrennt werden, um Hämolyse zu vermeiden.

Immuno Concepts rät wegen einer möglichen Kontamination mit Blutplättchen von der Verwendung von Plasma für diesen Test ab. Plättchen können durch Reaktion mit antiphospholipiden Antikörpern die Ergebnisse beeinträchtigen.

**ACHTUNG:** Die für Anticardiolipin-Tests vorgesehenen Serumproben nicht durch Hitzeeinwirkung deaktivieren. Inaktivierung durch Hitze kann erhöhte Werte zur Folge haben.

**Störsubstanzen:** Stark hämolytische, lipämische oder durch Mikroben verunreinigte Seren sowie Seren von Ikteruspatienten dürfen nicht verwendet werden, weil diese Zustände zu falschen Ergebnissen führen können. Proben mit sichtbaren Verunreinigungen müssen vor Verwendung zentrifugiert werden.

**Aufbewahrung:** Serumproben können bei einer Temperatur von 2-10°C maximal eine Woche lang aufbewahrt werden. Sollen die Proben länger aufbewahrt werden, müssen sie bei mindestens -20°C eingefroren werden. Serum darf nicht in einem Gefrierschrank mit Abtauautomatik gelagert werden.

**ACHTUNG:** Wiederholtes Einfrieren/Auftauen von Patientenproben ist zu vermeiden. Andernfalls können falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse auftreten.

## ALLGEMEINE HINWEISE ZUM VERFAHREN

1. Vor der Verwendung müssen unbedingt alle Serumproben und Kitbestandteile auf Zimmertemperatur (18-25°C) gebracht werden. Ein Liter Waschpuffer benötigt mehrere Stunden, um nach Entnahme aus dem Kühlchrank auf 20°C zu kommen. Bei Inkubationstemperaturen außerhalb des hier angegebenen Bereichs können die Ergebnisse verfälscht werden. Unverbrauchte Proben und Kitmaterialien müssen nach Verwendung wieder gekühlt werden.
2. Reagenzien vor dem Test durch vorsichtiges Umdrehen der Flasche gut durchmischen. Auf keinen Fall schütteln oder auf einen Mischer stellen. Schaumbildung vermeiden.
3. Beim Herstellen der Probenverdünnungen müssen die Pipettenspitzen vor der Zugabe von Serum in den Probenverdünner abgewischt werden. Außen an der Pipette anhaftendes überschüssiges Probenmaterial kann die Ergebnisse beeinträchtigen.
4. Das Arbeiten mit einer Mehrkanalpipette wird empfohlen, weil dadurch die Zugabe, die Inkubationszeit und die Reaktionszeit gleichmäßiger ausfallen.
5. **Sorgfältiges Waschen der Kavitäten ist von entscheidender Bedeutung.** Unzureichendes Waschen der Kavitäten führt zu hohen Hintergrundwerten und unter Umständen zu falsch-positiven Ergebnissen. Beim Auswaschen von Hand den Inhalt der Kavität aspirieren, anschließend die Kavitäten mit Waschpuffer füllen. Eine Kreuzkontamination zwischen den Kavitäten ist unbedingt zu vermeiden, vor allem beim ersten Waschgang nach dem Absaugen. Die Platten umdrehen und in der Luft kräftig ausschlagen, um alle Waschlösung aus den Kavitäten zu entfernen. Der Waschvorgang muss 3 bis 5 Mal wiederholt werden. Danach die Platten auf einem Papierhandtuch oder vergleichbarem Material ausklopfen, so dass der Waschpuffer vollständig entfernt wird. Die Verwendung eines automatischen Waschergeräts für Mikrotiterplatten wird empfohlen, weil dies zu gleichmäßigeren Waschergebnissen führt.  
**HINWEIS:** Auf Grund der verschiedenen Waschtechniken und Automatiksysteme muss die Anzahl der Waschgänge evtl. angepasst werden, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Jedes Labor muss für sein Waschsyste die Anzahl von Waschgängen mit der höchsten Effizienz selbst bestimmen.
6. Unzureichende Entfernung von Waschpufferrückständen kann zu inkonsistenter Farbentwicklung führen. Die Streifen sollten in der Luft kräftig ausgeschlagen und auf Papierhandtuch ausgelegt werden, um Waschpufferrückstände zu minimieren.
7. Die bei den Inkubationsschritten angegebene Zeitdauer muss unbedingt eingehalten werden. Alle Serumproben müssen vor Versuchsbeginn verdünnt und möglichst schnell hintereinander (in maximal fünf Minuten) in die Kavitäten dispensiert werden. Die Testserien dürfen nur so groß sein, dass diese Zeit bequem eingehalten werden kann.
8. Mit Ausnahme des letzten Inkubationsschritts (Substratlösung) beginnt jede Inkubation nach beendeter Proben- oder Reagenzienzugabe. Die Inkubation mit Substratlösung muss für jede Kavität genau 15 Minuten dauern. Daher müssen Proben und Reagenzien in derselben Reihenfolge und im selben zeitlichen Abstand zugegeben werden.
9. Kein Tween 20, Triton X-100 oder andere Reiniger in den Waschpuffer oder andere Reagenzien aus diesem Test zumischen.

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

### BERECHNUNGEN

Den Absorptionwert der Leerkavität von den Absorptionwerten des Kalibrators, der Kontrollseren und Patientenproben abziehen, um den Netto-Absorptionwert zu ermitteln. Den mittleren Absorptionwert von Doppelbestimmungen ermitteln.

## QUALITÄTSSICHERUNG

1. Der mittlere Nettoabsorptionswert des Kalibrators muss bei mindestens 0,150 liegen. Der mittlere Nettoabsorptionswert des Kalibrators wird als Grenzwert für den Test verwendet.
2. Die leere Kontrollkavität muss einen Absorptionswert unter 0,100 haben. Höhere Absorptionswerte als 0,100 sind als Hinweis auf unzureichendes Waschen oder Kontamination der Reagenzien zu interpretieren.
3. Die Kavitäten mit positivem Kontrollserum sollten eine höhere Nettoabsorption als der Grenzwert aufweisen. Die Kavitäten mit negativem Kontrollserum sollten eine niedrigere Nettoabsorption als der Grenzwert aufweisen. Wenn die Kontrollseren nicht im Rahmen dieser Vorgaben liegen, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.
4. Der Grenzwert muss für jeden Durchlauf ermittelt werden. Wenn ein Grenzwert aus einem anderen Durchlauf verwendet wird, werden die Ergebnisse unbrauchbar.

## INTERPRETATION DER PATIENTENPROBEN

1. Patientenproben mit Nettoabsorptionswerten, die gleich dem Grenzwert oder höher liegen, sind als positiv für Anticardiolipin-Antikörper anzusehen. Patientenproben mit Nettoabsorptionswerten, die niedriger als der Grenzwert liegen, sind als negativ für Anticardiolipin-Antikörper anzusehen.
2. Probenkavitäten, deren Nettoabsorptionsraten niedriger als der Grenzwert, jedoch innerhalb von 5% des Grenzwerts ausfallen, liegen im Grenzbereich. In diesem Fall muss der Test wiederholt werden, oder es muss mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin IgG & IgM Antikörpertestsystem, Katalognummer 7096-02, spezifisch auf IgG- und IgM-Anticardiolipin-Antikörper getestet werden.

## ANGABE DER ERGEBNISSE

Das Testergebnis ist als positiv oder negativ für Anticardiolipin-Antikörper anzugeben.

# ERWARTETE WERTE

## ZU ERWARTENDE ANTEILE VON ANTIKÖRPERN

In zahlreichen Studien wurde der Zusammenhang zwischen Anticardiolipin-Antikörpern und systemischem Lupus erythematosus nachgewiesen (1, 7, 8, 11-16). In diesen Studien lag der Anteil von IgG-Anticardiolipin-Antikörpern im Bereich von 23% bis 54% (Mittel 41,4%) und der Anteil von IgM-Anticardiolipin-Antikörpern zwischen 5% und 41% (Mittel 25,5%). Die unterschiedlichen Anteile in diesen Studien sind wahrscheinlich auf die Patientenauswahlkriterien und die untersuchten Patientenpopulationen zurückzuführen. Mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem wurden Serumproben von 60 Patienten getestet, die wegen rheumatischer Beschwerden den Arzt aufgesucht hatten. Diese Patientenpopulation wurde auf Grund ihrer klinischen rheumatischen Erkrankungen ausgewählt, nicht jedoch auf Grund eines spezifischen Krankheitsstadiums. In dieser Population testeten 23 Proben (38,3%) positiv für Anticardiolipin-Antikörper.

# BESCHRÄNKUNGEN DES TESTS

1. Es ist nicht möglich, lediglich auf der Basis von Anticardiolipin-Antikörper-Titrierungen eine Diagnose zu stellen. Der Arzt muss die Ergebnisse im Zusammenhang mit Krankengeschichte und Symptomen des Patienten, den Ergebnissen der körperlichen Untersuchung und anderen diagnostischen Methoden interpretieren.
2. Lediglich auf Grund eines positiven Testergebnisses für Anticardiolipin-Antikörper mit diesem Test sollte keine Behandlung initiiert werden. Für eine Behandlung müssen auch klinische Symptome, andere Laborergebnisse und der Gesamteindruck des Patienten auf den behandelnden Arzt herangezogen werden.
3. Falls der Patient negativ für Anticardiolipin-Antikörper testet, die klinischen Ergebnisse jedoch auf das Vorhandensein von Antiphospholipid-Antikörpern schließen lassen, empfehlen einige Forscher, auf Lupus-Antikoagulans als Bestätigung der negativen Anticardiolipin-Ergebnisse zu testen. Wenn die Ergebnisse für Anticardiolipin-Antikörper oder Lupus-Antikoagulans positiv sind, ist der Patient als positiv für Antiphospholipid-Antikörper zu bewerten (1).
4. Bei Patienten mit serologisch positiven Syphilisinfektionen kann das Testergebnis für Anticardiolipin-Antikörper positiv sein. Bei diesen Patienten wird das Risiko von Thrombosen im Allgemeinen als nicht höher eingeschätzt als bei rheumakranken Patienten mit Anticardiolipin-Antikörpern. 17 Proben von Patienten mit aktiver oder serologisch nachgewiesener Syphilis (FTA-Abs und/oder MHA-TP positiv) wurden mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem getestet. 13 (76,5%) dieser Proben waren positiv für Anticardiolipin-Antikörper. Die Diagnose von Syphilis sollte durch spezifische antitreponemale Antikörpertests bestätigt oder ausgeschlossen werden.
5. Anticardiolipin-Antikörper können bei vielen Infektionen vorübergehend auftreten. Wenn ein Patient ein positives Testergebnis aufweist und klinische Anzeichen einer Infektion vorliegen, sollte der Test nach Abklingen der Infektion wiederholt werden.
6. Dies ist ein qualitativer Test, der lediglich zum Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens von Anticardiolipin-Antikörpern dient. Mit diesem Test ist keine quantitative Bestimmung der Anticardiolipin-Antikörper möglich.



7. Dieser Test ist ein Screening-Test, der ein polyvalentes antihumanes Immunglobulin-Konjugat verwendet. Der Test dient zum Nachweis von Anticardiolipin-Antikörpern der Klassen IgG, IgM und IgA, ohne jedoch zwischen ihnen zu differenzieren.

## LEISTUNGSFÄHIGKEIT DES TESTS

### KLINISCHE SPEZIFITÄT

**Normale Kontrollseren:** Serumproben von 141 gesunden Blutspendern wurden mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem getestet. Fünf dieser Proben waren positiv für Anticardiolipin-Antikörper. Auf Basis dieser unselektierten normalen Population besitzt das Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem eine Spezifität für Anticardiolipin-Antikörper von 96,5%.

**Rheumatische Kontrollseren:** Serumproben von 20 Patienten mit anderen rheumatischen Erkrankungen als SLE, in deren Krankengeschichte keine Thrombosen verzeichnet waren, wurden mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem getestet. Keine dieser Proben war positiv für Anticardiolipin-Antikörper. Die Spezifität des Tests betrug bei dieser ausgewählten Population 100%.

### KLINISCHE SENSIBILITÄT

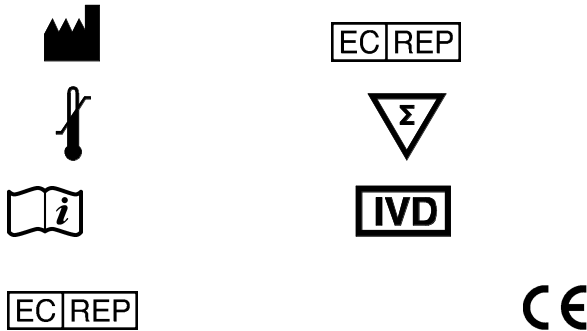
Mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem wurden Serumproben von 60 Patienten getestet, die wegen rheumatischer Beschwerden den Arzt aufgesucht hatten. Diese Patientenpopulation wurde auf Grund ihrer klinischen rheumatischen Erkrankungen ausgewählt, nicht jedoch auf Grund eines spezifischen Krankheitsstadiums. In dieser Population waren 23 Proben (38,3%) positiv für Anticardiolipin-Antikörper.

Serumproben von 20 Patienten mit SLE, in deren Krankengeschichte mindestens eine Thrombose aufgetreten war, wurden mit dem Immuno Concepts RELISA® Cardiolipin Antikörper-Screening-Testsystem getestet. 15 (75%) dieser Proben waren positiv für Anticardiolipin-Antikörper.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R.V. Anti-phospholipid Antibodies. Clin. Rheum. Dis. 11:591-609, 1985.
2. Harris, E.N., Gharavi, A.E., Asherson, R.A., et al. Cerebral infarction in systemic lupus erythematosus: association with anticardiolipin antibodies. Clin. Exp. Rheumatol. 2:47-51, 1984.
3. Mueh, J.R., Herbst, K.D., Rapaport, S.I. Thrombosis in patients with the lupus anticoagulant. Ann. Intern Med. 92:156-159, 1980.
4. Anderson, N.E., Ali, M.R. The lupus anticoagulant, pulmonary thromboembolism and fatal pulmonary hypertension. Ann. Rheum. Dis. 43:760-763, 1984.
5. Derue, G.J., Englert, H.J., Harris, E.N., et al. Fetal loss in systemic lupus erythematosus: association with anticardiolipin antibodies. J. Obstet. Gynaecol. 5:207-209, 1985.
6. Boey, M.L., Colaco, C.B., Gharavi, A.E., Elkon, K.B., Loizou, S., and Hughes, G.R.V. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. Brit. Med. J. 287:1021-1023, 1983.
7. Harris, E.N., Gharavi, A.E., Boey, M.L., Patel, B.M., Mackworth-Young, C.G., Loizou, S., and Hughes, G.R.V. Anticardiolipin Antibodies: Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet ii:1211-1214, 1983.
8. Loizou, S., McCrea, J.D., Rudge, A.C., Reynolds, R., Boyle, C.C., and Harris, E.N. Measurement of anticardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. Clin. Exp. Immunol 62:738-745, 1985.
9. Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R.V. Anticardiolipin antibody testing: the need for standardization. Arth. Rheum. 30:835-837, 1987.
10. Harris, E.N. Solid-phase anticardiolipin test revisited. Am. J. Med. 85:599-601, 1988.
11. Colaco, C.B., Male, D.K. Anti-phospholipid antibodies in syphilis and a thrombotic subset of SLE: distinct profiles of epitope specificity. Clin. Exp. Immunol. 59:449-456, 1985.
12. McHugh, N.J., Maymo, J., Skinner, R.P., James, I., and Maddison, P.J. Anticardiolipin antibodies, livedo reticularis, and major cerebrovascular and renal disease in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 47:110-115, 1988.
13. Koike, T., Sueishi, M., Funaki, H., Tomioka, H., and Yoshida, S. Anti-phospholipid antibodies and biological false positive serological test for syphilis in patients with systemic lupus erythematosus. Clin. Exp. Immunol. 56:193-199, 1984.
14. Cronin, M.E., Biswas, R.M., Van der Straeten, C., Fleisher, T.A., and Klippel, J.H. IgG and IgM Anticardiolipin Antibodies in Patients with Lupus with anticardiolipin antibody associated clinical syndromes. J. Rheumatol. 15:795-798, 1988.
15. Sturfelt, G., Nived, O., Norberg, R., Thorstensson, R., and Krook, K. Anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arth. Rheum. 30:382-388, 1987.
16. Ishii, Y., Nagasawa, K., Mayumi, T., and Niho, Y. Clinical importance of persistence of anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 49:387-390, 1990.

Im Falle der Beschädigung der Schutzverpackung treten Sie vor Gebrauch bitte mit Immuno Concepts in Verbindung.



Immuno Concepts, N.A. Ltd. 9825 Goethe Road, Suite 350 Sacramento, CA. 95827  
Technical Support USA: 1.800.251.5115 Outside USA: 1.916.363.2649  
Email: [technicalsupport@immunoconcepts.com](mailto:technicalsupport@immunoconcepts.com)

# RELISA® CARDIOLIPIN ANTIKÖRPER-SCREENING-TESTVERFAHREN

**Vor der Testdurchführung müssen alle Proben, Reagenzien (auch der Waschpuffer) und Mikrotiterstreifen auf Zimmertemperatur gebracht werden.**

- 1. ARBEITSBLATT AUSFÜLLEN**  
In das mit dem Kit gelieferte Arbeitsblatt die Lage der Proben in den Mikrotiterplatten eintragen. Der Kalibrator und die Kontrollseren sollten doppelt getestet werden. Eine Kavität dient als Leerwert. Es wird empfohlen, jede Patientenprobe, jeden Kalibrator und jedes Kontrollserum doppelt zu testen, bis eine für das Labor akzeptable Bestimmungsgenauigkeit erzielt wird.
- 2. PBS-WASCHPUFFER GEBRAUCHSFERTIG MACHEN**  
Inhalt eines Beutels mit PBS-Pufferpulver in einem Liter deionisiertem oder destilliertem Wasser auflösen. Die PBS-Waschpufferlösung kann verschlossen und gekühlt (2-25°C) bis zu vier Wochen aufbewahrt werden.
- 3. PATIENTENPROBEN VERDÜNNEN**  
Patientenproben durch Zugabe von 10 µl Patientenserum zu 990 µl Probenverdünner 1:100 verdünnen und gut durchmischen. Der Kalibrator und die Kontrollseren sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.
- 4. MIKROTITERSTREIFEN VORBEREITEN**  
Die benötigte Anzahl Streifen aus den Beuteln entnehmen und in den Halter einsetzen. Die Streifen müssen fest im Rahmen sitzen. Drücken Sie an beiden Enden des Streifens bis dieser sicher im Rahmen einrastet. Falls nur einzelne Kavitäten oder kein voller Streifen verwendet wird ist zu überprüfen ob jede Kavität fest sitzt. Streifen die korrekt im Halter sitzen können beim Umdrehen des Halters dann nicht herausfallen. Wenn weniger als acht Kavitäten für den Ansatz benötigt werden können diese durch abknicken getrennt werden. Unbenutzte Streifen oder Kavitäten können im Folienbeutel mit Trocknungsmittel verpackt und mit Klebstreifen versiegelt bis zu 45 Tage im Kühlschrank aufbewahrt und werden.
- 5. SERUMVERDÜNNUNGEN AUFTRAGEN**  
Je 100 µl Kalibrator, Kontrollseren und Patientenproben in die entsprechenden Kavitäten pipettieren, wie im Arbeitsblatt eingetragen. 100 µl Probenverdünner in die für den Lehrwert vorgesehene Kavität pipettieren.
- 6. STREIFEN INKUBIEREN** (30 Minuten bei Zimmertemperatur, d. h. 18-25°C)  
Die Streifen 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubieren lassen. Während dieser Zeit müssen die Streifen vor Luftzug oder Temperaturschwankungen geschützt sein. Es wird empfohlen, die Streifen mit Klebeband oder einem Papierhandtuch abzudecken, um sie vor Staub und anderen Fremdkörpern zu schützen.
- 7. STREIFEN WASCHEN** (siehe auch Allgemeine Hinweise zum Verfahren, Punkte 5 und 6)  
Kavitäten drei bis fünf Mal mit PBS-Waschpufferlösung auswaschen. Beim Auswaschen von Hand den Inhalt der Kavität aspirieren, anschließend die Kavitäten mit Waschpuffer füllen. Kreuzkontamination zwischen den Kavitäten vermeiden, vor allem beim ersten Waschgang nach dem Absaugen. Durch Umdrehen und kräftiges Ausschlagen in der Luft die Waschlösung vollständig aus den Kavitäten entfernen. Der Waschvorgang muss drei bis fünf Mal wiederholt werden. Danach die Streifen auf einem Papierhandtuch oder einem vergleichbaren Material ausklopfen, so dass der Waschpuffer vollständig entfernt wird.
- 8. ENZYM-ANTI-KÖRPER-REAGENS ZUGEBEN**  
100 µl Enzym-Antikörper-Reagens in jede Kavität pipettieren.
- 9. STREIFEN INKUBIEREN** (30 Minuten bei Zimmertemperatur, d. h. 18-25°C)  
Die Streifen 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubieren lassen. Während dieser Zeit müssen die Streifen vor Luftzug oder Temperaturschwankungen geschützt sein. Es wird empfohlen, die Streifen mit Klebeband oder einem Papierhandtuch abzudecken, um sie vor Staub und anderen Fremdkörpern zu schützen.
- 10. KAVITÄTEN WASCHEN**  
Kavitäten drei bis fünf Mal mit PBS-Waschpufferlösung auswaschen. Beim Auswaschen von Hand den Inhalt der Kavität aspirieren, anschließend die Kavitäten mit Waschpuffer füllen. Kreuzkontamination zwischen den Kavitäten vermeiden, vor allem beim ersten Waschgang nach dem Absaugen. Durch Umdrehen und kräftiges Ausschlagen in der Luft die Waschlösung vollständig aus den Kavitäten entfernen. Der Waschvorgang muss drei bis fünf Mal wiederholt werden. Danach die Streifen auf einem Papierhandtuch oder einem vergleichbaren Material ausklopfen, so dass der Waschpuffer vollständig entfernt wird.
- 11. SUBSTRATLÖSUNG ZUGEBEN**  
Eine Laborstoppuhr verwenden, um sicherzustellen, dass die Zeiten genau eingehalten werden. 100 µl Substratlösung in jede Kavität pipettieren. Die Substratlösung muss in gleichmäßigen Zeitabständen zugegeben werden, damit sichergestellt ist, dass jede Kavität exakt 15 Minuten inkubiert wird. In Kavitäten, die positive Proben enthalten, verfärbt sich die Lösung blau. In den anderen Kavitäten bleibt die Lösung farblos oder wird nur schwach blau.
- 12. STREIFEN INKUBIEREN** (genau 15 Minuten bei Zimmertemperatur, d. h. 18-25°C)  
Die Streifen genau 15 Minuten bei Zimmertemperatur inkubieren lassen. Während dieser Zeit müssen die Streifen vor Luftzug oder Temperaturschwankungen geschützt sein.
- 13. STOPPREAGENS ZUGEBEN**  
Nachdem die erste Kavität genau 15 Minuten inkubiert wurde, mit dieser anfangen und im selben Rhythmus wie bei der Substratlösung in jede Kavität 100 µl Stopplösung zugeben. Nach Zugabe der Stopplösung färbt sich blaue Substratlösung gelb, während farblose Lösung farblos bleibt.
- 14. ABSORPTION MESSEN**  
Die Absorption der Kavitäten muss innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe des Stoppreagens mit einem Mikrotiterplatten-Spektrophotometer gemessen werden. Die Kavitäten werden bei 450 nm um den Leerwert bereinigt gemessen. Wenn die Möglichkeit besteht, bei einer zweiten Wellenlänge zu messen, auch bei 600-650 nm als Referenzwellenlänge messen. Wenn die Messung bei 450 nm ohne Referenzwellenlänge erfolgt, sind die ermittelten Absorptionswerte höher.

**TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG:** +1-916-363-2649  
oder via E-Mail: [technicalsupport@immunoconcepts.com](mailto:technicalsupport@immunoconcepts.com)