

Instruction

WIESLAB[®] ASCA IgA semi quantitative kit

Enzyme immunoassay for detection of IgA autoantibodies
against the mannan structure of *Saccharomyces cerevisiae*

Break apart microtitration strips (12x8) 96 wells
Store the kit at +2-8° C
For in vitro diagnostic use only



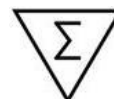
Document No. E-23-0177-06
May, 2015

WIESLAB[®] ASCA IgA semi quantitative kit

English:	page	2
Français:	page	12
Español:	página	19
Deutsch:	Seite	26
Italiano:	pagina	33
Dansk:	side.....	43
Norsk:	side.....	49
Svenska:	sida.....	55

REF

ASCA 150

IVD

96

INTENDED USE

The Wieslab[®] ASCA test kit is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection and semi-quantitation of IgA antibodies to mannan of *Saccharomyces cerevisiae* in human sera. The assay is used to detect antibodies in a single serum specimen. The results of the assay are to be used as an aid to the diagnosis of Crohn's disease.

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE.

Summary and explanation

Antibodies to the mannan structure of *Saccharomyces cerevisiae* has been known for several years (1) and their association to Crohn's disease discussed (2, 3). Their diagnostic use have, however, not been appreciated until the ANCA test was established and it was shown that ANCA occurred in ulcerative colitis. Thus, it became possible to use these two tests in combination to differentiate Crohn's disease from UC (4,5). The clinical presentation of these patients are often similar and then diagnosis depend on clinical, radiographic, endoscopic and laboratory data and especially in pediatric patients a serological test can be of use to avoid biopsy. The exact sensitivity and specificity is not yet settled. Studies indicate that 40-80% of UC patients have ANCA and 0-20% of Crohn's patients have ANCA, while 0-10% of UC patients have ASCA and 50-70% of Crohn's patients have ASCA. In one study the combination of positive ANCA with negative ASCA for diagnosis of UC had a sensitivity of 57% and specificity of 97%, while the combination of negative ANCA with positive ASCA for the diagnosis of Crohn's had a sensitivity of 49% and a specificity of 97% (6).

Principle of the Wieslab[®] ASCA assay

The wells of the microtitre strips are coated with mannan structure of *Saccharomyces cerevisiae*. During the first incubation, specific antibodies in diluted serum, will bind to the antigen coating.

The wells are then washed to remove unbound antibodies and other components.

A conjugate of alkaline phosphatase-labelled antibodies to human IgA binds to the antibodies in the wells in this second incubation.

After a further washing step, detection of specific antibodies is obtained by incubation with substrate solution. The amount of bound antibodies correlates to the colour intensity and is measured in terms of absorbance (optical density (OD)). The absorbance is then calculated against a calibrator curve and the results are given in arbitrary U/mL.

Warnings and precautions

- For in vitro diagnostic use.
- The human serum components used in the preparation of the controls and calibrators in the kit have been tested for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus 1 & 2 (HIV 1&2), hepatitis C (HCV) as well as hepatitis B surface antigen by FDA approved methods and found negative. Because no test methods can offer complete assurance that HIV, HCV, hepatitis B virus, or other infectious agents are absent, specimens and human-based reagents should be handled as if capable of transmitting infectious agents.
- The Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health recommended that potentially infectious agents be handled at the Biosafety Level 2.
- All solutions contain ProClin 300 as a preservative. Never pipette by mouth or allow reagents or patient sample to come into contact with skin. Reagents containing ProClin may be irritating. Avoid contact with skin and eyes. In case of contact, flush with plenty of water.
- The concentrations of ASCA in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity.

- Material safety data sheets for all hazardous components contained in this kit are available on request from Euro Diagnostica.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Warning

Contains ProClin 300:
Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

- H317: May cause an allergic skin reaction.
 P264: Wash hands thoroughly after handling.
 P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
 P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
 P333+313: If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

Specimen collection

The ASCA assay is for use with serum. Handle as if capable of transmitting infectious agents. Avoid using sera which are icteric, lipemic and hemolyzed. Heat-inactivated sera can yield unspecific reactivities and should not be used. Store serum between 2-8° C if testing will take place within five days. If specimens are to be kept for longer periods, store at -20° C or colder. Do not use a frost-free freezer because it may allow the specimens to go through freeze-thaw cycles and degrade antibody. Samples that are improperly stored or are subjected to multiple freeze-thaw cycles may yield spurious results. The NCCLS provides recommendations for storing blood specimens, (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Kit components and storage of reagents

- One frame with break apart wells (12x8) coated with mannan structure of *Saccharomyces cerevisiae* and one lid sealed in a foil pack with a dry pack.
- 1.5 mL negative control (NC) containing human serum in diluent.
- 1.5 mL positive control (PC) containing human serum in diluent.
- 13 mL conjugate containing alkaline phosphatase-labelled antibodies to human IgA (blue colour).
- 32 mL Diluent (Dil) containing PBS (red colour).
- 13 mL Substrate pNPP-solution.
- 30 mL wash solution 30x concentrated.
- Five calibrators containing human serum in diluent. 1.5 mL Cal 1 = 160 U/mL, 1.5 mL Cal 2 = 80 U/mL, 1.5 mL Cal 3 = 40 U/mL, 1.5 mL Cal 4 = 20 U/mL, 1.5 mL Cal 5 = 10 U/mL.
- All reagents in the kit, except the wash solution, are ready for use and should be stored at 2-8° C.
- Remove only the number of strips needed for testing, resealing the aluminium package carefully.

Materials or equipment required but not provided

- Microplate reader with filter 405 nm.
- Precision pipettes with disposable tips.
- Washer for strips, absorbent tissue, tubes and a timer.

PROCEDURE

All solutions should be used at room temperature.

Remove only the number of wells needed for testing, resealing the aluminium package carefully.

Incubate in all steps at room temperature (20-25° C) with lid. Incubate serum for 30 minutes, conjugate for 30 minutes and substrate for 60 minutes (\pm 10 minutes).

Preparation of washing solution

In case salt crystals are observed in the vial with concentrated wash solution, place the vial at 37°C water bath until the crystals have dissolved before dilution of wash solution. Dilute 10 mL of the 30x concentrated wash solution in 290 mL distilled water. When stored at 2-8° C, the diluted wash solution is stable until the date of expiration of the kit.

Dilution of serum and incubation

Dilute the patient's serum 1/50 with diluent (490 μ L diluent +10 μ L serum).

Quantitative assay: Pipet 100 μ L/well in duplicate of diluent (as a blank), Calibrator 1, 2, 3, 4, 5, NC, PC and diluted patient's serum (P) according to the diagram below.

Qualitative assay: Pipet 100 μ L/well in duplicate Calibrator 5, PC, NC and diluted patient's serum (P) according to the diagram below. Incubate for 30 minutes.

Quantitative assay:

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Qualitative assay:

	1	2	3	4	5
	Cal 5	P2			
	Cal 5	P2			
	NC	etc.			
	NC				
	PC				
	PC				
	P1				
	P1				

After serum incubation

Wash 3 times with 300 μ L washing solution / well, filling and emptying the wells each time; after the last wash, empty the wells by tapping the strip on an absorbent tissue.

Adding conjugate

Add 100 μ L conjugate to each well. Incubate for 30 minutes.

After conjugate incubation

Wash as before.

Adding substrate solution

Add 100 μ L substrate solution to each well, incubate for 60 minutes (\pm 10 minutes).

Read the absorbance at 405 nm on a microplate reader.

Calculations

Quantitative assay:

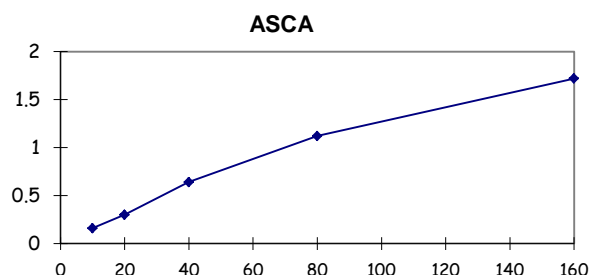
Subtract the OD value for the blank from the other OD values.

Construct a calibrator curve by plotting the OD against the unit values of the 5 calibrators.

The five calibrators provided have been assigned arbitrary values of 160 U/mL for calibrator 1, 80 U/mL for calibrator 2, 40 U/mL for calibrator 3, 20 U/mL for calibrator 4 and 10 U/mL for calibrator 5. Read the unit value of the patient from the constructed curve. Values greater than 160 should be reported as >160, or reassay them with a higher dilution.

Arbitrary U/mL has been adopted, as no generally recognised international standard exists for expressing ASCA titres.

Example:	Calibrator	U/mL	Absorbance
	1	160	1.71
	2	80	1.11
	3	40	0.63
	4	20	0.30
	5	10	0.16



A sample with an absorbance value of 0.37 will read on the X-axis as having 24 U/mL of ASCA

Important: The curve is an example and should not be used for actual patient interpretation.

Qualitative assay:

An optical density (OD) ratio for PC, NC each patient sample is calculated as follows:

$$\text{OD ratio} = \frac{\text{OD patient sample}}{\text{OD of Cal 5}}$$

The patient sample is negative if the OD ratio is < 1.2 and positive if the OD ratio is >1.4.

Quality Control

Quantitative assay:

The OD for the negative control should be less than that of calibrator 5.

The OD for calibrator 1 should be > 1.0

The value for the positive control see lot certificate.

The negative and positive controls are intended to monitor for substantial reagent failure. The positive control will not ensure precision at the assay cut-off. It is recommended to assay an additional control at the assay cut-off.

Qualitative assay:

The OD for calibrator 5 should be between 0.1–0.4.

The value for the positive and negative controls, see lot certificate.

The ratio for the negative control should be < 1.2

If any of the values are not within their respective ranges, the test should be considered invalid and the test should be repeated. Additional controls may be tested according to guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations or accrediting organisations. Refer to NCCLS C24-A for guidance on appropriate QC practices.

Interpretation of results

Quantitative assay:	Qualitative assay:
< 12 U/mL = Negative	OD ratio < 1.2 = Negative
12-14 U/mL = Equivocal ; Retest, if still equivocal retest by an alternative method or test a new sample	1.2-1.4 = Equivocal
>14 U/mL = Positive	> 1.4 = Positive

An equivocal or positive sample should always be confirmed by a quantitative assay.

Limitations

The individual patient's antibody titre can not be used as a measure of disease severity, as antibodies from different patients may differ from each other in affinity. Thus, it is difficult to obtain an absolute standardisation of results.

The test should not be relied upon as the sole basis of decisions on clinical therapy, but should be used in combination with clinical symptoms and the results of other available tests.

Sera from patients with other autoimmune diseases and from normal individuals may contain potentially cross-reactive autoantibodies. Some individuals may be positive for ASCA antibodies with little or no evidence of clinical disease. On the other hand, some patients with active disease may have undetectable levels of these antibodies.

Therapy should not be started on basis of a positive ASCA result. Initiation or changes in treatment should not be based on changes in ASCA concentration alone, but rather on careful clinical observation.

Expected results

A few percent of normal healthy individuals are found to be positive in ASCA. The exact sensitivity and specificity is not yet settled. Studies indicate that 0-10% of UC patients have ASCA and 50-70% of Crohn's patients have ASCA.

Performance characteristics

Table 1. Clinical sensitivity and specificity. A total of 424 frozen retrospective sera with clinical characterisation were assayed. The following table summarises the results

Control and Disease groups	Total number	Negative <12 U/mL	Equivocal 12-14 U/mL	Positive >14 U/mL
Blood donors:	74	72	0	2
WG, MP, SLE, RA:	40	36	1	3
Celiac:	50	47	1	2
Ulcerative Colitis:	142	135	1	6
Crohn's disease:	117	53	5	59

WG = Wegener's granulomatosis, MP = microscopic polyangiitis, SLE = systemic lupus erythematosus, RA = rheumatoid arthritis

Clinical sensitivity (Equivocal samples excluded from calculations)

Crohn's disease = 59/112 = 53 % 95% CI = 43.4-61.9 %

Clinical specificity (Equivocal samples excluded from calculations)

WG, MP, RA, SLE = 36/39 = 92 % 95% CI = 79.1-98.4 %
 Celiac = 47/49 = 96 % 95% CI = 86.0-99.5 %
 Ulcerative Colitis = 136/142 = 96 % 95% CI = 91.0-98.4 %
 Normal = 72/74 = 97 % 95% CI = 90.6-99.7 %

The 95% confidence interval (CI) was calculated using the exact method.

Table 2. Inter-assay precision was determined by testing four different samples in duplicate. Results were obtained for six different runs.

Sample	Mean value U/mL	SD	CV %
PK	25	0.7	3
K1	110	6.5	6
K2	86	5.5	6
K3	30	1.6	5

Table 3. Intra-assay precision was determined by testing one sample in 20 wells.

Sample	Mean value U/mL	SD	CV %
1	51	1.3	3

Table 4. Linearity. The values were determined for serial two-fold dilutions of three positive sera. The values were compared to log 2 of dilution by standard linear regression. The data indicates that the assay has a linear relationship with serum dilution.

Serum	neat	1:2	1:4	1:8	1:16	r
1	150	82	45	23	11	0.999
2	42	22	11	5	2	0.999
3	162	87	46	23	11	0.999

Table 5. Batch to batch variation was determined by testing four different samples in duplicate. Results were obtained for four different batches.

Sample	Mean value U/mL	SD	CV %
PK	24	2	9
K1	79	3	4
K2	48	3	6
K3	26	1	4

Troubleshooting

Problem:	Possible causes:	Solution:
Control values out of range.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Incorrect temperature, timing or pipetting; reagents not mixed. 2. Cross contamination of controls. 3. Improper dilution. 4. Optical pathway not clean. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Check that the time and temperature was correct. See "Poor precision" below. Repeat test. 2. Pipette carefully. 3. Repeat test. 4. Check for dirt or air bubbles in the wells. Wipe bottom and reread.
All test results negative.	<ol style="list-style-type: none"> 1. One or more reagents not added, or added in wrong sequence. 2. Antigen coated plate inactive. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Recheck procedure. Check for unused reagents. Repeat test. 2. Check for obvious moisture in unused wells. Wipe bottom and reread.
All test results yellow.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Contaminated buffers or reagents. 2. Washing solution contaminated. 3. Improper dilution of serum. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Check all solutions for turbidity. 2. Use clean container. Check quality of water solution used to prepare. 3. Repeat test.
Poor precision.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pipette delivery CV greater than 5%. 2. Serum or reagents not mixed sufficiently or not equilibrated to room temperature. 3. Reagent addition taking too long; inconsistency in timing intervals. 4. Optical pathway not clean. 5. Washing not consistent; trapped bubbles; washing solution left in the wells. 6. Improper pipetting. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Check calibration of pipette. Use reproducible technique. 2. Mix all reagents gently but thoroughly and equilibrate to room temperature. 3. Develop consistent uniform technique and use multi-tip device or auto dispenser to decrease time. 4. Check for air bubbles in the wells. Wipe bottom and reread. 5. Check that all wells are filled and aspirated uniformly. Dispense liquid above level of reagent in well. After the last wash, empty the wells by tapping the strip on an absorbent tissue. 6. Avoid air bubbles in pipette tips.

REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR. REFERANSER. REFERENSER

1. **Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
2. **Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
3. **Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
4. **Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
5. **Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
6. **Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Número de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Número de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Número catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udløbsdato. Utløpsdato. Använd före.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefährdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Läs instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atención. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
 96	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend für 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Inneholder tilstrækkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehåller tillräckligt för 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformità alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. Överensstämmer med direktiv 98/79/EG för medicintekniska produkter.

Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.
DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.
CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.
BUF WASH 30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
SUBS pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.
CAL X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.
CONTROL X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.

INSTRUCTION ABREGEE SUR LE MANIEMENT ET L'EXECUTION

Indication d'utilisation

CETTE TROUSSE EST UTILISEE POUR LE DIAGNOSTIC *IN VITRO*

La trousse Wieslab® ASCA utilise une méthode immuno-enzymatique (*ELISA*) pour la détection et la détermination semi-quantitative des anticorps IgA, contre les mannu-structures de *saccharomyce cerevisiae* dans le sérum humain. Le résultat peut servir d'indice en cas de soupçon de la maladie de Crohn. L'analyse doit être effectuée par du personnel qualifié.

Prelevement d'échantillons

L'analyse-ASCA est à utiliser avec des échantillons sériques. Veuillez penser à manipuler les contenus d'éprouvettes et surtout les échantillons sériques comme étant susceptibles de transmettre des agents infectieux.

Eviter d'utiliser du sérum ictérique, lipémique ou hémolysé. Le sérum inactivé par la chaleur peut montrer des réactivités non spécifiques et ne devrait donc pas être analysé.

Les échantillons peuvent être conservés à 2-8° C si l'analyse est réalisée dans les jours suivants. Pour des périodes plus longues, conserver le sérum à -20° C ou à température inférieure. Ne pas utiliser de congélateurs à décongélation automatique, qui pourraient faire subir à l'échantillon des cycles de congélation-décongélation dégradant l'anticorps. Les échantillons qui ont été conservés de façon inadéquate ou qui ont subi des cycles de congélation-décongélation peuvent donner de faux résultats. Le NCCLS a publié des directives pour la conservation des échantillons sanguins (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Precautions d'emploi

- N'utiliser que pour le diagnostic in vitro.
- Le sérum humain pour la préparation de contrôles et de calibration a été testé négatif à la présence d'anticorps au virus humain immunodéficient 1 & 2 (VIH 1&2), hépatite C (VHC), aussi bien qu'à l'hépatite B antigènes de surface. Toutefois, puisqu'il n'existe aucune méthode garantissant l'absence totale d'agents pathogènes, VIH 1/2, VHC et Hépatite B ou autres composants infectieux, on doit considérer tout matériau d'origine humaine comme étant potentiellement infectieux.
- C'est pourquoi il faudra manipuler avec précaution tout échantillon d'origine humaine.
- Le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) et le National Institutes of Health (NIH) aux USA recommandent d'analyser en laboratoire les matériaux potentiellement infectieux en niveau de sécurité 2.
- Toutes les solutions contiennent du ProClin 300 comme conservateur. Ne jamais pipeter avec la bouche. Evitez tout contact direct avec la peau lors de la manipulation de réactifs ou d'échantillons de patients. Les réactifs contenant du ProClin 300 peuvent être irritants. C'est pourquoi il faut absolument éviter le contact avec la peau et les yeux. En cas de contact, laver immédiatement les parties touchées avec une grande quantité d'eau.
- On peut se procurer les fiches de données de sécurité relatives à tous les constituants dangereux inclus dans le coffret sur demande auprès d'Euro Diagnostica.



Attention

BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Contient ProClin 300:

Masse de réaction de: 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

H317:	Peut provoquer une allergie cutanée.
P264:	Se laver soigneusement les mains après manipulation.
P280:	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
P302+352:	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon.
P333+313:	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

Materiel necessaire mais non fourni

- Lecteur de plaque avec filtre à 405 nm.
- Micropipettes de précision avec embouts jetables.
- Dispositif de lavage des microplaques, papier absorbant, tubes et minuterie.

Contenu du paquet et sa conservation

- Un cadre avec des languettes d'échantillons (12x8 well) enduites d'une préparation de manne de *saccharomyce cerevisiae*, y compris le couvercle correspondant. Le tout conditionné dans un sachet étanche contenant un déshydratant.
- Un flacon de 1,5 mL, contrôle négatif (NC), sérum humain dans le diluant.
- Un flacon de 1,5 mL, contrôle positif (PC), sérum humain dans le diluant.
- Un flacon de 13 mL, solution conjuguée, avec de la phosphatase alcaline conjuguée à des anti-IgA humaines purifiées (couleur bleue).
- Un flacon de 32 mL, tampon diluant (couleur rougeâtre) contenant une solution PBS.
- Un flacon de 13 mL, solution de substrat pNPP.
- Un flacon de 30 mL, solution de lavage (30 x concentrée)
- Cinq flacons de calibration - étalons, solutions de sérum humain dilué, 1,5 mL Cal 1: 160 U/mL, 1,5 mL Cal 2: 80 U/mL, 1,5 mL Cal 3: 40 U/mL, 1,5 mL Cal 4: 20 U/mL, 1,5 mL Cal 5: 10 U/mL.

Tous les composants cités précédemment, sauf les solutions de lavage dans la trousse, sont immédiatement prêts à l'emploi. Conserver la trousse entre +2-8° C et prière de n'extraire que le nombre de barrettes nécessaire. Les barrettes restantes doivent être conservées dans le sachet fermé.

Préparation des réactifs

Avant de démarrer la procédure de dosage, tous les composants de la trousse doivent être amenés à température ambiante de (20-25° C). Pour éviter l'évaporation, il est nécessaire d'utiliser un couvercle. Pour l'incubation (à température ambiante), les temps suivants sont à respecter: première incubation d'échantillon 30 minutes, incubations avec la solution conjuguée 30 minutes, incubation de substrat 60 minutes (\pm 10 minutes).

PROCEDURE DE DOSAGE

En cas d'observation de cristaux de sel dans le flacon contenant la solution de lavage concentrée, placer le flacon dans un bain-marie à 37 °C jusqu'à dissolution complète des cristaux avant de procéder à la dilution de la solution de lavage. Diluer 10 mL de solution de lavage concentrée 30 fois (X30) dans 290 mL d'eau distillée. Conservée à 2-8° C, la solution de lavage diluée est stable jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Dilution d'échantillons et temps d'incubation

Diluer le sérum de patient au 1/50 avec le tampon diluant (490 µL de diluant + 10 µL de sérum).

Analyse Quantitative: Pipeter 100µL de tampon diluant (en doublets) comme suit: Diluant (blanc), solution de calibration 1,2,3,4,5, NC, PC et sérum de patient (P) selon le tableau de distribution ci-après, laisser incuber pendant 30 min à température ambiante (20-25° C).

Analyse Qualitative: Pipeter 100µL de tampon diluant (en doublets) comme suit: solution de calibration 5, NC, PC et sérum de patient (P) selon le tableau de distribution ci-après, laisser incuber pendant 30 min à température ambiante (20-25° C).

Analyse Quantitative

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Analyse Qualitative

1	2	3	4	5
Cal 5	P2			
Cal 5	P2			
NC	etc			
NC				
PC				
PC				
P1				
P1				

Après l'incubation des échantillons / Supplément de solution conjuguée

Laver 3 fois avec 300µL de solution de lavage par puits, en remplissant et vidant les puits à chaque fois. Après le dernier lavage, tapoter délicatement les barrettes sur du papier absorbant. Ajouter 100 µL de conjugué dans chaque puits. Incuber de nouveau pendant 30 min à température ambiante.

Après incubation du conjugué

Laver comme indiqué plus haut.

Addition de solution de substrat

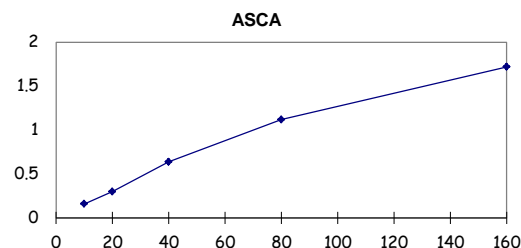
- Ajouter 100 µL de solution de substrat dans chaque puits et incuber la microplaque, pendant 60 min (\pm 10 min) à température ambiante (20-25° C).
- Lire l'absorbance sur un lecteur de microplaque à 405 nm.

Calculs des résultats

Validation

1. Lire les valeurs d'absorbance à 405 nm.
2. Soustraire la valeur D.O. du blanc des toutes les autres valeurs D.O.
3. Dessiner la courbe d'étalonnage en traçant les valeurs de D.O. par rapport aux valeurs en U/mL arbitraires des 5 étalons. On a attribué des valeurs arbitraires à chacun des 5 étalons : 160 U/mL à l'étalon 1, 80 à l'étalon 2, 40 à l'étalon 3, 20 à l'étalon 4 et 10 à l'étalon 5.
4. Lire la concentration de l'échantillon de patient en U/mL arbitraires sur la courbe d'étalonnage. Les valeurs supérieures à 160 U/mL devraient être rapportées comme > 160.
5. Les U/mL arbitraires ont été adoptées puisqu'il n'y a pas d'étalon international pour exprimer de valeurs standard reconnues.

Exemple:	Etalon	U/mL	Absorbance
	1	320	1.71
	2	160	1.11
	3	80	0.63
	4	40	0.30
	5	10	0,16



Important: Ces valeurs sont données à titre d'exemple et ne doivent pas être utilisées pour l'interprétation des échantillons de patient

Analyse qualitative: La valeur d'absorbance pour les échantillons respectifs est calculée à l'aide de la formule suivante:

$$\text{DO ratio} = \frac{\text{DO échantillon de patient}}{\text{DO de l'étalon 5}}$$

L'échantillon est interprété comme négatif pour une cote de < 1,2 et comme positif pour une cote de > 1,4.

Contrôle de qualité

Analyse quantitative: La valeur de D.O. du contrôle négatif doit être inférieure à celle de l'étalon 5.

La valeur de D.O. de l'étalon 1 doit être >1,0.

La valeur du contrôle positif - voir le lot certificat.

Les contrôles négatif et positif sont prévus pour contrôler tout défaut substantiel des réactifs.

Analyse qualitative: Pour l'étalon 5 l'absorbance doit être comprise entre 0,1–0,4.

Consulter le certificat du lot pour connaître la valeur des contrôles négatif et positif.

La cote du contrôle négatif être < 1,2.

Le contrôle positif ne garantit pas la précision à la valeur seuil du dosage. Il est conseillé le dosage d'un contrôle supplémentaire à la valeur seuil. Si l'une des valeurs ne donne pas les résultats attendus, le test doit être considéré comme non valide et il doit être refait. Des contrôles supplémentaires peuvent être dosés suivant les exigences de la réglementation. Voir les recommandations du contrôle de qualité du NCCLS, document C24-A.

Interprétation des resultants

Analyse quantitative	Analyse qualitative
< 12 U/mL = négatif	Cote < 1,2 = négatif
12-14 U/mL = douteux	Cote 1,2-1,4 = douteux
> 14 U/mL = positif	Cote > 1,4 = positif

* Les échantillons qui ont des valeurs dans la zone grise doivent être dosés de nouveau ; si le résultat du deuxième dosage est douteux, doser de nouveau avec une autre méthode ou alors doser un nouvel échantillon.

Limites du dosage

Le titre d'anticorps d'un patient ne doit pas être utilisé pour mesurer la gravité de la maladie, puisque les anticorps de différents patients peuvent différer les uns des autres par leur affinité (des antigènes utilisés ici). Par conséquent, il est difficile d'obtenir une standardisation absolue des résultats.

Les décisions thérapeutiques ne devraient pas être prises sur la base unique des résultats du test, ceux-ci doivent être utilisés, associés à d'autres paramètres, comme aux symptômes cliniques et aux résultats d'autres tests disponibles.

Des sérums provenant de patients atteints d'autres maladies auto-immunes et de sujets sains peuvent contenir d'auto-anticorps pouvant provoquer d'éventuelles réactions croisées. Quelques sujets peuvent être positifs vis à vis des anticorps anti-ASCA avec peu ou pas de signes cliniques de maladie. D'autre part, quelques patients atteints de maladie active peuvent avoir des concentrations indétectables de ces anticorps.

La thérapie immunosuppressive ne devrait pas être mise en place sur la base d'un résultat anti-ASCA positif. Le début ou le changement du traitement ne devrait pas reposer sur le seul changement de concentration des anti-ASCA, mais plutôt sur une observation clinique approfondie.

Les concentrations ASCA dans un sérum spécifique peuvent varier selon les différentes méthodes d'analyse. Ceci est basé sur les différentes qualités et sensibilités des réactifs qui proviennent d'autres trousse de différents fabricants.

REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR. REFERANSER. REFERENSER

- Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
- Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
- Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
- Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
- Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
- Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Número de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Número de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Número catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udløbsdato. Utløpsdato. Använd före.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefährdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Läs instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atención. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend für 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Inneholder tilstrækkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehåller tillräckligt för 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformità alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. Överensstämmer med direktiv 98/79/EG för medicintekniska produkter.

Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.
DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.
CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.
BUF WASH 30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x conc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x conc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x conc.
SUBS pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.
CAL X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.
CONTROL X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.

INSTRUCCIONES DE USO EN VERSIÓN BREVE AL ESPAÑOL

Utilización del producto

El Test Wieslab® ASCA es una prueba inmunológica de acoplamiento de enzimas (*ELISA*) para la prueba y cuantificación de anticuerpos IgA los cuales están dirigidos en contra de *Saccharomyces cerevisiae* mannan en el suero humano. El resultado puede ser un sospechoso indicio de la enfermedad de Chrons. El análisis debe ser realizado por personal calificado.
PARA USO DEL DIAGNOSTICO EN VITRO.

Toma de muestras

El análisis ASCA está concebido para las pruebas de suero. Considere que diferentes reactivos sobre todo las pruebas de suero pueden tener componentes potencialmente infecciosos. No analice pruebas que sean ictericas, lípidas o hemolíticas. El suero no activado por calor puede mostrar actividad inespecífica y por tanto no debe ser analizado. Las pruebas pueden ser conservadas entre 2-8° C cuando los análisis sean realizados en los próximos días. La conservación a largo plazo debe realizarse a - 20° C o más. Los congeladores con sistema de autodescongelación no son apropiados para estos casos, debido al riesgo de descongelación de las pruebas. Las pruebas que no han sido debidamente almacenadas pueden arrojar resultados erróneos. La NCCLS tiene las normativas para el almacenamiento de muestras de sangre (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Información de seguridad

- Sólo para uso del diagnóstico en vitro.
- El suero para la preparación de controles y calibración fue probado negativamente en antígenos de superficie contra anticuerpos de la debilidad inmunológica humana Virus 1 & 2 (HIV 1&2), Hepatitis C (HCV), Hepatitis B Es de considerarse en todo caso que ningún método puede garantizar la ausencia de HIV, HCV, Hepatitis B-Virus, u otros componentes infecciosos.
- Todas las muestras humanas deben ser consideradas potencialmente infecciosas y manipularse con el cuidado requerido.
- Los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) y los National Institutes of Health (NIH) in Estados Unidos recomiendan que materiales potencialmente infecciosos deben ser investigados en laboratorios de nivel de seguridad 2.
- Todas las soluciones contienen ProClin 300 como conservante. No manipule nunca la pipeta con la boca. Evite el contacto directo de la piel con los reactivos o las muestras de los pacientes. Reactivos con ProClin 300 actúan de forma irritante, por eso es indispensable evitar el contacto con la piel y los ojos. En caso de que un reactivo entre en contacto con la piel o los ojos, enjuague inmediatamente y con cuidado la zona afectada con gran cantidad de agua.
- Pueden solicitarse a Euro Diagnostica las hojas de datos de seguridad del material para todos los componentes peligrosos contenidos en este kit.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Atención

Contiene ProClin 300:

Masa de reacción de: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

- H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
 P264: Lávese bien las manos después de manipular.
 P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
 P302+352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
 P333+313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

Equipo adicional requerido que no es parte integrante del set

- Espectrofotómetro con filtro de 405nm.
- Pipeta de precisión con U/mL desechable.
- Instalación de lavado para placas de Microtiter, papel secante, tubos de ensayo y cronómetro.

Conservación

- Un cuadro con tiras de muestra (12x8 well), que están recubiertas con preparado de Mannan de *Saccharomyces cerevisiae* con sus respectivas tapas. Todo dentro de una bolsa a prueba de aire, rellena de sustancia secante.
- 1,5 mL Control negativo (NC), suero humano diluido.
- 1,5 mL control positivo (PC), suero humano diluido.
- 13 mL solución conjugat con fosfato alcalino unido al anticuerpo Anti-IgA (color azul).
- 32 mL solución diluyente "Diluent" (Dil), contiene PBS (color rojo).
- 13 mL solución sustrato pNPP.
- 30 mL solución de lavado (30 x concentrada).
- cinco soluciones de calibración con suero humano diluido 1,5 mL Cal 1: 160 U/mL , 1,5 mL Cal 2: 80 U/mL 1,5 mL Cal 3: 40 U/mL , 1,5 mL Cal 4: 20 U/mL, 1,5 mL Cal 5: 10 U/mL.
- Todos los componentes anteriormente nombrados, excepto el set de solución de lavado están preparados para uso inmediato. Conserve el set en el refrigerador a temperatura entre +2-8° C. Por favor manténgase tapado para evitar la evaporación. Extraiga solamente las tiras de muestra que necesita. Las restantes conservarlas en una bolsa cerrada.

PROCEDIMIENTO

Antes de usarse las soluciones dejarlas que tomen la temperatura ambiente. Todas las incubaciones deben realizarse a temperatura ambiente (20-25° C). Para evitar la evaporación deben taparse. Para la incubación rigen los siguientes tiempos: Primera prueba de incubación de prueba 30 minutos, incubaciones con solución conjugat 30 minutos , incubación de sustrato 60 minutos (± 10 minutos).

Solución de lavado

Si observa cristales de sal en el frasco con solución de lavado concentrada, coloque el frasco en un baño de agua a 37 °C hasta que los cristales se hayan disuelto, antes de la dilución de la solución de lavado. Elija 10 mL de una la solución de lavado 30 veces concentrada en 290 mL de agua destilada. La solución diluida puede conservarse entre 2-8° C hasta la fecha de vencimiento del set. La solución de lavado adicional se obtiene mediante la disolución de 9 g NaCl in 1,0L agua y 0,5 mL Tween 20.

Tiempo de incubación

Diluya la prueba del paciente en 1/50 de diluyente. (490µL Diluyente +10 µL Suero).

Análisis cuantitativo: Retire con la pipeta 100µL / Diluyente en duplicado de lo siguiente: Diluyente (Valor vacío), solución de calibración 1,2,3,4,5, NC, PC y pruebas de paciente (P) como en el diagrama. Incúbase durante 30 minutos.

Análisis cualitativo: Saque con la pipeta 100µL / diluyente en duplicado de lo siguiente: solución de calibración 5, PC y prueba de paciente (P) como en el diagrama. Incúbase 30 minutos.

		Análisis cuantitativo					Análisis cualitativo				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
A		Dil	Cal 4	P1			Cal 5	P2			
B		Dil	Cal 4	P1			Cal 5	P2			
C		Cal 1	Cal 5	P2			NC	etc			
D		Cal 1	Cal 5	P2			NC				
E		Cal 2	NC	etc			PC				
F		Cal 2	NC				PC				
G		Cal 3	PC				P1				
H		Cal 3	PC				P1				

Después de la prueba de incubación

Lávese 3 veces con 300µL de solución de lavado. Con cada ciclo de lavado sea muy cuidadoso al vaciar y rellenar las probetas. Después del último lavado debe extraerse el líquido restante mediante papel absorbente (tiras de muestra).

Adición de solución conjugat

Añada 100 µL de solución conjugat a cada reactivo. Incúbese durante 30 minutos.

Después de la incubación

Lave como se indica arriba.

Añada solución de sustrato

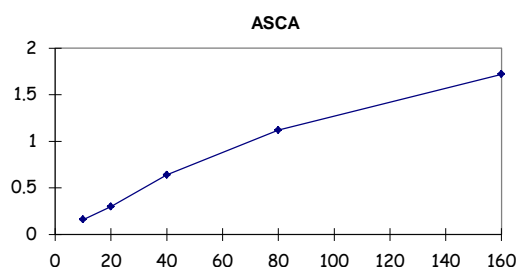
Añada 100µL de solución de sustrato a cada set de reactivo. Incúbese durante 60 minutos (\pm 10 minutos).

Mida la absorción con un espectrómetro de 405nm.

Calculación

Análisis cuantitativo: Saque los valores cero de las restantes pruebas. Dibuje una curva de calibración donde se marquen los 5 calibradores de absorción en contra de las respectivas U/mL arbitrarias. A las 5 soluciones de calibración se les asignan los siguientes valores arbitrarios: solución de calibración 1 comprende 160 U/mL, solución de calibración 2: 80 U/mL, solución de calibración 3: 40 U/mL, solución de calibración 4: 20 U/mL, solución de calibración 5: 10 U/mL. Obtenga de la curva los valores de la prueba del paciente. Valores mayores de 160 deben indicarse como > 160. Como alternativa debe repetirse la prueba con una solución más diluida. Los resultados de las pruebas están indicadas en U/mL arbitrarias, debido a que para la indicación no hay un reconocimiento tipo (standard internacional).

Ejemplo:	soluc.de calibración	U/mL	Absorción
	1	320	1.71
	2	160	1.11
	3	80	0.63
	4	40	0.30
	5	10	0.16



Importante: La curva indicada es sólo un ejemplo y no debe ser utilizada para la lectura de muestras de pacientes.

Análisis cualitativo : La absorción para la respectiva prueba se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{OD ratio} = \frac{\text{OD prueba de paciente}}{\text{OD de solución de calibración 5}}$$

La prueba será tomada como negativa con un valor de < 1,2 y como positiva cuando tenga un valor de 1,4.

Control de calidad

Análisis cuantitativo: La absorción del control negativo debe ser inferior a 5.

El valor de la solución de calibración tiene que ser $1 > 1,0$.

La U/mL de valor para el control positivo se obtiene en el certificado de la sonda.

Los controles positivo y negativo se utilizan para determinar si el Set ha funcionado técnicamente.

Análisis cuantitativo: Con solución de calibración 5 soll debe haber una absorción de 0,1–0,4.

El valor para los controles positivos y negativos se extrae del certificado de las sondas.

El parámetro del valor negativo debe estar entre $1 < 1,2$.

Si uno o varios de los valores no se encuentran dentro de los parámetros indicados el debe debe declararse nulo y repetirse el análisis. Si las autoridades locales así lo exigen, pueden realizarse controles adicionales. Recomendaciones referentes al control de calidades pueden obtenerse del NCCLSs Dokument C24-A.

Significado de los resultados

Análisis cuantitativos	Análisis cualitativo
< 12 U/mL = negativo	Parámetro < 1,2 = negativo
12-14 U/mL = dudoso	Parámetros 1,2–1,4 = dudoso
> 14 U/mL = positivo	Parámetro > 1,4 = positivo

Con resultados sudosos repetir la prueba. Cuando la repetición no sea clara utilice alternativamente otros métodos de comprobación.

Límites del análisis

-El concentrado de anticuerpos de un solopaciente no puede ser utilizado para dictaminar la gravedad de la enfermedad, debido a que los anticuerpos de diferentes pacientes presentan diferentes afinidades (del anígeno aquí utilizado) y es por eso que el análisis es difícil de tipificar.

La utilización de los resultados de este análisis no son suficientes para un dictamen clínico. En lugar de éstos deben considerarse los análisis del Test conjuntamente con otros parámetros relevantes como por ejemplo parámetro clínico (síntomas, etc) para la valoración correcta y específica de la situación clínica. Es conocido que sueros de pacientes con otras enfermedades autoinmunes y generalmente individuos sanos muestran reacción cruzada () en los resultados de los análisis sin que se tengan pruebas de indicio de enfermedad. En otras palabras un individuo puede reaccionar positivamente para Anticuerpos-A SCA sin que haya pruebas clínicas para senalar una enfermedad. Al mismo tiempo se sabe que pacientes que padecen la enfermedad pueden reaccionar en forma negativa con Anticuerpos-ASCA. Un tratamiento tampoco debe iniciarse o modificarse por cambios de la concentración ASCA, pero sí debe basarse en el cuadro clínico general. La concentración ASCA de un suero específico puede variar después del análisis con diferentes métodos de prueba. Esto se debe a las diferentes características y sensibilidad de los reactivos que provienen de diferentes Sets y diferentes fabricantes.

REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR. REFERANSER. REFERENSER

1. **Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
2. **Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
3. **Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
4. **Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
5. **Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
6. **Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklrning der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Nmero de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Nmero de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Nmero catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udløbsdato. Utløpsdato. Anvnd fre.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefhrdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Ls instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atensin. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend fr 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Inneholder tilstrkkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehller tillräckligt fr 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément  la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformit alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. verensstmmet med direktiv 98/79/EG fr medicintekniske produkter.

<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">Ag</div>	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">DIL</div>	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">CONJ</div>	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> BUF WASH 30X </div>	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> SUBS pNPP </div>	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> CAL X </div>	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> CONTROL X </div>	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.

GEBRAUCHSANWEISUNG IN DEUTSCHER KURZFASSUNG

Benutzung des Produktes

Das Wieslab® ASCA Test Set ist ein *enzymgekoppelter Immunnachweis (ELISA)* für die Bestimmung und Quantifizierung von IgA Antikörper, welche gegen *Saccharomyces cerevisiae* Mannustrukturendie in Humanserum gerichtet sind. Das Resultat kann als Hinweis bei Verdacht von Crohns Krankheit dienen. Die Analyse soll von qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

NUTZUNG VON DER *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK:

Probenentnahme

Die ASCA-Analyse ist für Serumproben gedacht. Bitte bedenken Sie, dass verschiedene Reagenzien und vor allem die Serumproben potentiell infektiöse Bestandteile beinhalten könnten. Analysieren Sie keine Proben, die ikterisch, lipämisch oder hämolysiert sind. Wärmeinaktiviertes Serum kann unspezifische Aktivität zeigen und sollte deswegen nicht analysiert werden. Proben können bei 2-8° C aufbewahrt werden, wenn die Analyse innerhalb der nächsten Tage gemacht wird. Eine langfristige Aufbewahrung sollte bei - 20° C oder kälter erfolgen. Gefrierschränke mit automatischer Abtaueinrichtung sind nicht für die Aufbewahrung geeignet, da das Risiko des Auftauens der Proben besteht. Proben, die nicht ordnungsgemäß gelagert worden sind, können falsche Ergebnisse hervorrufen.

NCCLS hat Richtlinien für Lagerung von Blutproben herausgegeben (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Sicherheitsinformation

- Nur für die in-vitro-Diagnostik zu benutzen
- Das Serum für die Präparierung von Kontrollen und Kalibrierung wurde auf Antikörper gegen die menschliche Immunschwäche-Viren 1 & 2 (HIV 1&2), Hepatitis C (HCV), Hepatitis B Oberflächenantigen getestet mit einem negativen Ergebnis. Es ist jedoch in jedem Fall zu bedenken, dass keine Methode die Abwesenheit von HIV, HCV, Hepatitis B-Virus, oder andere infektiöse Bestandteile zur Gänze garantieren kann.
- Alle humanen Proben müssen deswegen als potentiell infektiös betrachtet und mit Sorgfalt behandelt werden.
- Das Centers for Disease Control and Prevention (CDC) und das National Institutes of Health (NIH) in den USA empfehlen, dass potentiell infektiöse Materialien in Labors mit der Sicherheitsstufe 2 untersucht werden sollten.
- Alle Lösungen beinhalten ProClin 300 als Konservierungsstoff. Pipetieren Sie niemals mit dem Mund. Vermeiden Sie direkten Kontakt bei Umgang mit Reagenz- oder Patientenproben mit der Haut. Reagenzien mit ProClin 300 wirken reizend. Deswegen sind der Kontakt mit Haut und Augen unbedingt zu vermeiden. Für den Fall dass Reagenzien mit Haut oder Augen in Berührung gekommen sind, spülen Sie sofort die betroffenen Stellen mit viel Wasser sorgfältig ab.
- Sicherheitsdatenblätter sind für alle in diesem Testkit enthaltenen gefährlichen Bestandteile auf Anfrage von Euro Diagnostica erhältlich.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Achtung

Enthält ProClin 300:
 Reaktionsmasse aus: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7]
 and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

H317:	Nach Gebrauch die Hände gründlich waschen.
P264:	Gründlich die Hände waschen nach Gebrauch.
P280:	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz verwenden.
P302+352:	BEI HAUT KONTAKT: Mit sehr viel Seife und Wasser waschen.
P333+313:	Im Falle einer Hautreizung oder -ausschlags: Ärztlichen Rat einholen, bzw. zur Kenntnis bringen.

Zusätzlich erforderliche Ausrüstung, die nicht Bestandteile des Sets sind

- Spektrophotometer mit Filter für 405nm.
- Präzisionspipetten mit Einwegspitzen
- Waschvorrichtung für Microtiterplatten, Papier zum Abtrocknen, Reagenzgläser, Zeitschaltuhr

Verpackungsinhalt und dessen Aufbewahrung

- Ein Rahmen mit Probestreifen (12x8 well), die mit Mannanpräparat von *Saccharomyces cerevisiae* beschichtet sind mit zugehörigem Deckel. Verpackt in einem mit Trockenmittel gefülltem wiederverschließbarem Beutel aus luftdichter Folie.
- 1,5 mL Negativ Kontrolle (NC), vorverdünntes Humanserum.
- 1,5 mL Positiv Kontrolle (PC), vorverdünntes Humanserum.
- 13 mL Konjugatlösung, mit alkalischer Phosphatase gekoppelt an Anti-IgA Antikörper (blaue Farbe).
- 32 mL Verdünnungspuffer "Diluent" (Dil) , enthält PBS (rote Farbe).
- 13 mL Substrat pNPP - Lösung
- 30 mL Waschlösung (30 x Konzentriert)
- fünf Kalibrationslösungen mit verdünntem Humanserum. 1,5 mL Cal 1: 160 E/mL, 1,5 mL Cal 2: 80 E/mL, 1,5 mL Cal 3: 40 E/mL, 1,5 mL Cal 4: 20 E/mL, 1,5 mL Cal 5: 10 E/mL.

Alle zuvor genannten Bestandteile, außer der Waschlösungen im Kit, sind gebrauchsfertig. Bewahren Sie das Set im Kühlschrank bei +2-8° C auf Bitte entnehmen Sie nur so viele Probestreifen wie nötig. Die restlichen Probestreifen müssen in dem geschlossenen Beutel aufbewahrt werden.

TESTPROZEDUR

Alle Lösungen vor Gebrauch auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Alle Inkubationen bei Raumtemperatur (20-25° C) durchführen. Um Verdunstung zu verhindern, muss ein Deckel benutzt werden. Für die Inkubation gelten folgende Zeiten: Erste Probeinkubation 30 Minuten, Inkubationen mit Konjugatlösung 30 Minuten, Substartinkubation 60 Minuten (\pm 10 Minuten).

Zubereitung der Waschlösung

Falls sich in dem Röhrchen mit der konzentrierten Waschlösung Salzkristalle gebildet haben, dieses vor Verdünnung der Waschlösung in ein 37°C warmes Wasserbad stellen, bis sich die Salzkristalle aufgelöst haben. Verdünnen Sie 10 mL von der 30-fach konzentrierten Waschlösung mit 290 mL destilliertes Wasser. Die verdünnte Waschlösung ist bei Aufbewahrung bei 2-8° C bis zum Verfallsdatum des Sets haltbar.

Probeverdünnung und Inkubationszeiten

Verdünnen Sie die Patientenprobe 1/50 mit dem Probenverdünnungspuffer (490 μ L Diluent +10 μ L Serum).

Quantitative Analyse: Pipettieren Sie 100 μ L/Verdünnungspuffer in Duplikat von nachfolgendem: Diluent (Leerwert), Kalibrationslösung 1,2,3,4,5, NC, PC und Patientenprobe (P) wie in u. a. Schemata. Bitte Doppelbestimmung. Inkubieren Sie 30 Minuten.

Qualitative Analyse: Pipettieren Sie 100 μ L / Verdünnungspufferin, Kalibrationslösung 5, NC, PC und Patientenprobe (P) wie in u. a. Schemata. Inkubieren Sie 30 Minuten. Bitte Doppelbestimmung.

Quantitative Analyse

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Qualitative Analyse

	1	2	3	4	5
	Cal 5	P2			
	Cal 5	P2			
	NC	etc			
	NC				
	PC				
	PC				
	P1				
	P1				

Nach der Probeinkubation

Waschen Sie 3 Mal mit 300µL Waschlösung /Ansatz. Bitte sehr sorgfältig das Entleeren und Befüllen der Probengefäße bei jedem Waschzyklus vornehmen. Nach dem letzten Waschen muss die verbleibende Flüssigkeit durch Abschlagen der Probestreifen auf absorbierendem Papier entfernt werden.

Zusatz von Konjugatlösung

Fügen Sie 100 µL Konjugatlösung zu jedem Reaktionsansatz hinzu. Inkubieren Sie für 30 Minuten.

Nach der Konjugatinkubation

Waschen Sie wie oben angegeben.

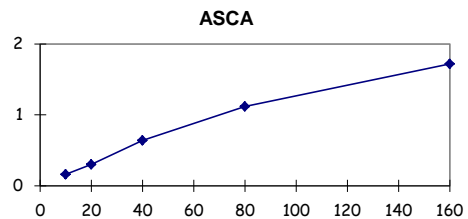
Hinzufügen der Substratlösung

Fügen Sie 100µL Substratlösung zu jedem Reaktionsansatz hinzu. Für 60 Minuten (±10 Minuten) inkubieren. Messen Sie die Absorption mit einem Spektrophometer bei 405nm.

Berechnungen

Quantitative Analyse: Ziehen Sie den Leerwert von den übrigen Proben ab. Zeichnen Sie eine Kalibrierkurve, indem Sie die 5 Kalibratorabsorptionen gegen ihre respektiven arbiträren E/mL eintragen. Den 5 Kalibrierlösungen sind folgende arbiträre Werte zuzuordnen: Kalibrierlösung 1 entspricht 160 E/mL, Kalibrierlösung 2: 80 E/mL, Kalibrierlösung 3: 40 E/mL, Kalibrierlösung 4: 20 E/mL, Kalibrierlösung 5: 10 E/mL. Entnehmen Sie die Werte der Patientenprobe aus der Kurve. Werte größer als 160 sollen als > 160 angegeben werden, alternativ wird die Analyse mit einer stärker verdünnten Probe wiederholt. Das Testergebnis wird in arbiträren E/mL angegeben, da es keinen international anerkannten Standard gibt.

Beispiel:	Kalibrierlösung	E/mL	Absorption
	1	160	1,71
	2	80	1,11
	3	40	0,63
	4	20	0,30
	5	10	0,16



Qualitative Analyse: Der Absorption für die respektive Probe wird mit Hilfe der folgenden Formel berechnet:

$$\text{OD ratio} = \frac{\text{OD Patientenprobe}}{\text{OD von Kalibrierlösung 5}}$$

Die Probe wird bei einer Quote von < 1,2 als negativ bewertet und als positiv bei einer Quote von > 1,4.

Qualitätskontrolle

Quantitative Analyse: Die Absorption der Negativkontrolle soll weniger als 5 betragen.

Der Messwert für die Kalibrierlösung 1 soll >1,0 sein.

Der E/mLwert Wert für die Positivkontrolle (PC) siehe lot Zertifikat. Die Positiv- und die Negativkontrolle werden benutzt, um festzustellen, ob das Set technisch funktioniert hat.

Qualitative Analyse: Bei Kalibrierlösung 5 soll eine Absorption zwischen 0,1–0,4 vorliegen. Der Wert für die Positiv- und die Negativkontrolle, wird aus dem Lot-Zertifikat entnommen. Der Quote der Negativkontrolle soll < 1,2 sein.

Falls eine oder mehrere Werte nicht innerhalb der angegebenen Größenordnung liegen, sollte der Test als nicht gültig erklärt und die Analyse wiederholt werden. Sollte es erforderlich sein, können weitere Kontrollen analysiert werden. Empfehlungen betreffend Qualitätskontrolle können aus dem NCCLSs Dokument C24-A entnommen werden.

Auswertung der Resultate

Quantitative Analyse	Qualitative Analyse
< 12 E/mL = negativ	Quote < 1,2 = negativ
12-14 E/mL = nicht eindeutig	Quote 1,2 – 1,4 = nicht eindeutig
> 14 E/mL = positiv	Quote > 1,4 = positiv

Bei nicht eindeutigen Resultaten Test wiederholen. Wenn Wiederholungstest ebenfalls nicht eindeutig, alternatives Nachweisverfahren verwenden.

Die Grenzen der Analyse

Der Antikörpertiter eines einzelnen Patienten kann für die Beurteilung von dem Schweregrad der Krankheit nicht benutzt werden, da die Antikörper von unterschiedlichen Patienten unterschiedliche Affinitäten (zum hier verwendeten Antigen) aufweisen können. Die Analyse ist deshalb schwer zu standardisieren.

Die ausschließliche Verwendung der Ergebnisse der Analyse dieses Testes sind für eine klinische Beurteilung nicht ausreichend. Stattdessen müssen die Ergebnisse der Analyse zusammen mit anderen relevanten Parametern benutzt werden, wie z.B. klinische Parameter (Symptome etc.), um eine korrekte Beurteilung der spezifischen klinischen Situation erfassen zu können. Es ist bekannt, dass Sera von Patienten mit anderen autoimmunen Krankheiten und generell gesunde Individuen eine gewisse Kreuzreaktion in der Analyse aufweisen können. Mit anderen Worten, einige Individuen können also positiv für ASCA - Antikörper reagieren, ohne dass sonstige klinische Belege für die Krankheit angezeigt werden. Gleichzeitig ist es auch bekannt, dass Patienten mit aktiver Krankheit negativ ASCA - Antikörper reagieren können. Eine Behandlung darf nicht nur auf Grund eines positiven ASCA Resultates begonnen werden. Eine Behandlung darf auch nicht aufgrund von Veränderungen der Titer ASCA initiiert oder geändert werden, sondern muss in jedem Fall auf das klinische Gesamtbild basieren. Die ASCA Konzentrationen in einem spezifischen Serum kann nach Analyse mit unterschiedlichen Testmethoden variieren. Das beruht primär auf unterschiedliche Eigenschaften und Empfindlichkeiten der Reagenzien, die aus unterschiedlichen Sets verschiedener Hersteller stammen.

REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR. REFERANSER. REFERENSER

1. **Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
2. **Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
3. **Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
4. **Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
5. **Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
6. **Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Número de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Número de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Número catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udløbsdato. Utløpsdato. Använd före.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefährdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Läs instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atención. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
 96	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend für 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Indeholder tilstrækkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehåller tillräckligt för 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformità alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. Överensstämmer med direktiv 98/79/EG för medicintekniska produkter.

<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">Ag</td> </tr> </table>	Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.		
Ag				
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">DIL</td> </tr> </table>	DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.		
DIL				
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">CONJ</td> </tr> </table>	CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.		
CONJ				
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">BUF</td> <td style="text-align: center;">WASH</td> <td style="text-align: center;">30X</td> </tr> </table>	BUF	WASH	30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
BUF	WASH	30X		
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">SUBS</td> <td style="text-align: center;">pNPP</td> </tr> </table>	SUBS	pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.	
SUBS	pNPP			
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">CAL</td> <td style="text-align: center;">X</td> </tr> </table>	CAL	X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.	
CAL	X			
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">CONTROL</td> <td style="text-align: center;">X</td> </tr> </table>	CONTROL	X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.	
CONTROL	X			

ISTRUZIONI

Uso previsto

Il kit Wieslab® ASCA utilizza una metodica immunoenzimatica (ELISA) per la determinazione e la quantificazione degli anticorpi IgA diretti contro la struttura mannanica di *Saccharomyces cerevisiae* nel siero umano. Il test si usa per la rivelazione degli anticorpi in un singolo campione di siero. I risultati della prova possono essere usati come aiuto per la diagnostica della malattia di Crohn.
PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Sommario e spiegazione

Gli anticorpi per la struttura mannanica di *Saccharomyces cerevisiae* sono noti da diversi anni (1) e già discussa è la loro associazione con la malattia di Crohn (2, 3). Il loro impiego in diagnostica, comunque, non è stato apprezzato fino alla disponibilità del test ANCA e la dimostrazione che gli ANCA sono presenti nella colite ulcerosa (CU). Così, è diventato possibile l'uso combinato di questi due test per differenziare la malattia di Crohn dalla CU (4,5). L'aspetto clinico di questi pazienti è spesso simile e la diagnosi dipende quindi dai dati clinici, radiografici, endoscopici e di laboratorio e, specialmente in pazienti pediatrici, un test serologico può essere utile per evitare una biopsia. L'esatta sensibilità e specificità non sono ancora esattamente definite. Vi sono studi che indicano che 40-80% dei pazienti con CU ha gli ANCA e 0-20% dei pazienti con Crohn ha gli ANCA, mentre 0-10% dei pazienti con CU ha gli ASCA e 50-70% dei Crohn ha gli ASCA. In uno studio, la combinazione di ANCA positivi con ASCA negativi per la diagnosi di CU ha dato una sensibilità del 57% e una specificità del 97%, mentre la combinazione di ANCA negativi con ASCA positivi per la diagnosi di malattia di Crohn ha dato una sensibilità del 49% e una specificità del 97% (6).

Principio del test Wieslab® ASCA

I pozzetti delle micro-strisce sono rivestite con la struttura mannanica di *Saccharomyces cerevisiae*. Durante la prima incubazione, gli anticorpi specifici nel siero diluito si legheranno al rivestimento antigenico.

I pozzetti vengono quindi lavati per eliminare gli anticorpi non legati e altre componenti.

Un coniugato di anticorpi anti-IgA umane marcati con fosfatasi alcalina si lega agli anticorpi nel pozzetto nella seconda incubazione.

Dopo un ulteriore lavaggio, la determinazione di anticorpi specifici è ottenuta per incubazione con la soluzione substrato. La quantità di anticorpi legati correla con l'intensità di colore ed è misurata in termini di assorbanza (densità ottica (DO)). L'assorbanza viene quindi valutata su una curva di calibrazione e i risultati sono espressi in U/mL arbitrarie.

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico in vitro.
- Ciascuna U/mL di siero umano utilizzata nella preparazione dei controlli e dei calibratori nel kit è stata testata e risultata negativa per la presenza di anticorpi per i virus 1 & 2 dell'immuno deficienza acquisita (HIV 1&2), dell'epatite C (HCV), dell'epatite B(antigeni di superficie)con metodo approvato dall'FDA. E' però da considerare che nessun metodo può offrire complete garanzie che i virus HIV, HCV, Epatite B, o altri agenti infettivi siano assenti. Tutti i campioni devono quindi essere trattati come potenziali vettori di malattie infettive.
- Il Centro per il Controllo e Prevenzione delle Malattie (CDC) e l' Istituto Nazionale per la Salute (NIH) raccomandano che il materiale potenzialmente infettivo sia maneggiato da bio-laboratori con livello di sicurezza 2.
- Tutte le soluzioni contengono ProClin 300 come conservante. Non pipettare mai con la bocca ed evitare che i reagenti entrino in contatto con gli occhi o la pelle. I reagenti contenenti ProClin possono essere irritanti. In caso di contatto lavare subito con acqua abbondante.
- la concentrazione di ASCA in un dato campione può variare nei valori a seconda dei vari produttori di kit a causa delle diversità dei metodi e delle specificità dei reagenti.

- Le schede dei dati di sicurezza per tutti i componenti pericolosi contenuti in questo kit sono disponibili a richiesta presso Euro Diagnostica.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Attenzione

Contiene ProClin 300:

Miscela di: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

H317:	Può provocare una reazione allergica cutanea.
P264:	Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.
P280:	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P302+352:	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
P333+313:	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

Raccolta dei campioni

La determinazione degli ASCA si esegue su siero. Trattare come materiale biologico potenzialmente infetto.

Evitare di usare campioni itterici, lipemici o emolizzati.

Campioni inattivati al calore possono manifestare reattività non specifiche e se ne sconsiglia l'uso. Conservare il siero tra 2-8° C se il test sarà eseguito entro cinque giorni. Se i campioni saranno conservati per periodi più lunghi, dovranno essere conservati ad una temperatura di -20° C o più bassa. I congelatori con sbrinatori automatici non sono adatti in quanto esiste il rischio che i campioni durante lo sbrinamento si scongelino e questo degraderebbe gli anticorpi. I campioni che sono conservati in modo errato o che sono soggetti a sbrinamenti possono produrre risultati errati.

L'NCCLS ha stabilito le norme per il corretto trattamento dei campioni di sangue, (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990)

Componenti del Kit e conservazione dei reagenti

- una piastra di pozzetti (12x8) rivestiti con estratto da *Saccharomyces cerevisiae*. Il tutto sigillato in una busta di alluminio con essiccante.
- 1.5 mL di controllo negativo (CN) contenente siero umano e diluente.
- 1.5 mL di controllo positivo (CP) contenente siero umano e diluente.
- 13 mL di coniugato (anti-IgA) con fosfatasi alcalina diretto contro anticorpi umani (colore blu).
- 32 mL Diluente (Dil) contenente PBS (colore rosso).
- 13 mL Substrato pNPP.
- 30 mL soluzione di lavaggio concentrata 30x.
- cinque calibratori contenenti siero umano in diluente. 1.5 mL Cal 1 = 160 U/mL, 1.5 mL Cal 2 = 80 U/mL, 1.5 mL Cal 3 = 40 U/mL, 1.5 mL Cal 4 = 20 U/mL, 1.5 mL Cal 5 = 10 U/mL.
- Tutti i reagenti del Kit, esclusa la soluzione di lavaggio, sono già pronti per l'uso e devono essere conservati a +2-8 ° C.
- Rimuovere solo il numero di strip necessarie per il test, risigillando attentamente la busta di alluminio.

Materiali o strumenti richiesti ma non forniti

- Lettore per micropiastre con filtro a 405 nm.
- Pipette di precisione con puntali monouso.
- Lavatore per strip, carta assorbente, provette e un timer.

PROCEDURA

Tutte le soluzioni devono essere usate a temperature ambiente.

Incubare sempre a temperatura ambiente (20-25° C) con coperchio. Incubare il siero per 30 minuti, il coniugato per 30 minuti e il substrato per 60 minuti (\pm 10 minuti).

Preparazione della soluzione di lavaggio

Se nella fiala della soluzione di lavaggio concentrata si osserva la formazione di cristalli di sale, scaldare la fiala a bagnomaria a una temperatura di 37°C fino allo scioglimento di tutti i cristalli prima della diluizione della soluzione di lavaggio. Diluire 10 mL della soluzione di lavaggio concentrata 30x in 290 mL di acqua distillata. Se conservata a + 2-8° C. La soluzione di lavaggio diluita è stabile fino alla data di scadenza del Kit.

Diluzione del siero e incubazione.

Diluire il siero del paziente 1/50 con diluente (490 μ L diluente +10 μ L siero).

Analisi quantitativa: Pipettare 100 μ L/pozzetto in doppio di diluente, di Calibratori 1, 2, 3, 4, 5, di CN, di CP e di siero del paziente diluito(P) come dal seguente diagramma. Incubare per 30 minuti

Analisi qualitativa: Pipettare 100 μ L/pozzetto in doppio di diluente, di Calibratore 5, di CP, di CN e di siero del paziente diluito (P) come dal seguente diagramma. Incubare per 30 minuti.

Analisi quantitativa

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc.		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Analisi Qualitativa

	1	2	3	4	5
	Cal 5	P2			
	Cal 5	P2			
	NC	etc.			
	NC				
	PC				
	PC				
	P1				
	P1				

Dopo l'incubazione del siero

Lavare ogni pozzetto 3 volte con 300 μ L della soluzione di lavaggio. Riempire e svuotare i pozzetti ogni volta, dopo l'ultimo lavaggio svuotare tutti i pozzetti e asportare i residui liquidi con carta assorbente.

Aggiungere il coniugato

Aggiungere 100 μ L di coniugato in ogni pozzetto. Incubare per 30 minuti.

Dopo l'incubazione del coniugato

Lavare come sopra descritto

Aggiungere la soluzione substrato

Aggiungere 100 μ L della soluzione substrato in ogni pozzetto, incubate per 60 minuti (\pm 10 minuti).

Leggere l'assorbanza a 405 nm in un lettore per micropiastre.

Calcolo dei risultati**Analisi quantitativa:**

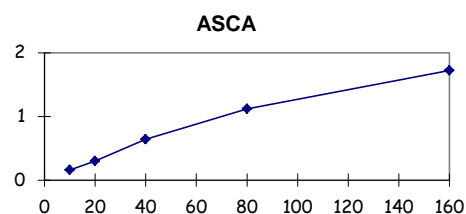
Sottrarre il valore di densità ottica del bianco campione dagli altri valori di densità.

Disegnare un diagramma delle DO dei 5 calibratori.

Ai 5 calibratori in dotazione nel Kit sono stati assegnati valori arbitrari. 160 U/mL per il calibratore nr. 1, 80 U/mL per il calibratore nr. 2, 40 U/mL per il calibratore nr.3, 20 U/mL per il calibratore nr. 4 e 10 U/mL per il calibratore nr. 5. leggete le U/mL del paziente dal diagramma. I valori superiori a 160 dovranno essere riportati >160, il test dovrà essere ripetuto con una maggiore diluizione.

U/mL arbitrarie sono state adottate, in quanto non esiste alcun standard internazionale generalmente riconosciuto

Esempi:	Calibratori	U/mL	Assorbimento
	1	160	1.71
	2	80	1.11
	3	40	0.63
	4	20	0.30
	5	10	0.16



Un campione con un valore di assorbimento di 0,37 sarà letto nell'ascissa X come 24 U/mL ASCA

Importante: il diagramma è solo un esempio e non deve essere tenuto in considerazione per l'interpretazione delle analisi del paziente in esame.

Analisi qualitativa:

Per ciascun campione di ogni paziente e dei controlli (CP e CN) calcolare il rapporto di densità ottica come segue:

$$\text{Rapporto densità ottica} = \frac{\text{Densità ottica del campione del paziente}}{\text{Densità ottica del calibratore 5}}$$

Il campione del paziente sarà negativo se il rapporto della densità ottica DO è $< 1,2$ e positivo se il rapporto della densità ottica DO è $> 1,4$.

Controllo di qualità

Analisi quantitative:

La densità ottica del controllo negativo dovrà essere inferiore a quella del calibratore 5.

La densità ottica del calibratore 1 dovrà essere $> 1,0$

Per il valore del controllo positivo vedere il certificato allegato. I controlli positivo e negativo si utilizzano per monitorare l'eventuale malfunzionamento dei reagenti. Il controllo positivo non assicura la precisione dei valori vicini al cut-off. In questo caso raccomandiamo di fare un test di conferma.

Analisi qualitative:

La densità ottica del calibratore 5 deve essere tra 0.1–0.4

Per il valore dei controlli positivi e negativi vedi certificato allegato.

Se uno dei valori non rientra nella gamma prevista, il test non deve considerarsi valido e quindi dovrà essere ripetuto.

Interpretazione dei risultati

Analisi quantitativa:	Analisi qualitativa:
< 12 U/mL = Negativo	rapporto DO < 1.2 = Negativo
12-14 U/mL = Dubbio Ritestare il campione dubbio, se risulta ancora dubbio ritestare con un metodo alternativo o testare un nuovo campione.	1.2-1.4 = Dubbio
> 14 U/mL = Positivo	> 1.4 = Positivo

Un campione equivoco o positivo deve essere sempre confermato con un'analisi quantitativa .

Limitazioni

Il valore degli anticorpi di ogni singolo paziente non può essere utilizzato per misurare la gravità della malattia in quanto gli anticorpi dei diversi pazienti possono differire l'un l'altro per affinità ed è pertanto difficile ottenere una standardizzazione assoluta dei risultati.

Il test non deve essere utilizzato come unico mezzo per decisioni su terapie cliniche, ma deve essere utilizzato in combinazione con i parametri clinici e i risultati di altri test disponibili. Sieri di pazienti con malattie autoimmuni e di individui sani possono contenere potenziali autoanticorpi cross-reattivi. Alcuni individui possono risultare positivi agli anticorpi ASCA anche con leggeri o inesistenti sintomi di malattia. D'altra parte, alcuni pazienti con patologie attive possono avere livelli anticorpali non rilevabili e quindi la terapia non deve iniziare sulla sola base di un risultato ASCA positivo. L'inizio o il cambiamento di un trattamento non devono basarsi solo su variazioni della concentrazione degli ASCA, ma piuttosto sulla base di osservazioni cliniche accurate.

Risultati attesi

Una piccola percentuale di individui normali sani è risultata positiva agli ASCA. La sensibilità e specificità esatte non sono ancora precisate. Studi indicano che 0-10% di pazienti CU e il 50-70% dei pazienti di Crohn hanno gli ASCA.

Caratteristiche

Tabella 1. Sensibilità e Specificità Clinica. Retrospectivamente, sono stati analizzati 424 campioni di sieri congelati caratterizzati clinicamente. La tabella seguente riassume i risultati

Gruppi di Controllo e Malati	Numero totale	Negativi <12 U/mL	Dubbi 12-14 U/mL	Positivi >14 U/mL
Donatori di sangue	74	72	0	2
WG, MP, SLE, RA	40	36	1	3
Celiaci	50	47	1	2
Coliti ulcerose	142	135	11	6
Malattia di Crohn	117	53	5	59

WG = Granulomatosi di Wegener, MP = poliangite microscopica, SLE = lupus eritematoso sistemico, RA = artrite reumatoide

Sensibilità Clinica (Campioni dubbi esclusi dai calcoli)

Malattia di Crohn = $59/112 = 53\%$ 95% CI = 43.4-61.9 %

Specificità Clinica (Campioni dubbi esclusi dai calcoli)

WG, MP, RA, SLE = $36/39 = 92\%$ 95% CI = 79.1-98.4 %

Celiaci = $47/49 = 96\%$ 95% CI = 86.0-99.5 %

Coliti ulcerose = $136/142 = 96\%$ 95% CI = 91.0-98.4 %

Normali = $72/74 = 97\%$ 95% CI = 90.6-99.7 %

L'intervallo di confidenza al 95% (CI) è stato calcolato usando il metodo esatto.

Tabella 2. Precisione Inter-assay determinata saggiando quattro diversi campioni in duplicato. I risultati sono stati ottenuti in sei diverse serie.

Campione	Valore medio in U/mL	DS	CV %
PK	25	0.7	3
K1	110	6.5	6
K2	86	5.5	6
K3	30	1.6	5

Tabella 3. Precisione Intra-assay determinata saggiando un campione in 20 pozzetti.

Campioni	Valore medio in U/mL	SD	CV %
1	51	1.3	3

Tabella 4. Linearità. I valori sono stati determinati per diluizioni seriali a raddoppio di tre sieri positivi. I valori sono stati confrontati al log 2 della diluizione con una regressione lineare standard. I dati indicano che il test ha una relazione lineare con la diluizione del siero.

Sieri	non dil.	1:2	1:4	1:8	1:16	r
1	150	82	45	23	11	0.999
2	42	22	11	5	2	0.999
3	162	87	46	23	11	0.999

Tabella 5. Variazione inter- lotto determinata saggiando quattro diversi campioni in duplicato. Risultati ottenuti con quattro diversi lotti.

Campione	Valore medio in U/mL	SD	CV %
PK	24	2	9
K1	79	3	4
K2	48	3	6
K3	26	1	4

Troubleshooting

Problema:	Possibili cause:	Soluzione:
Valori di controllo fuori range.	1.Temperatura , tempi o pipettaggi scorretti; reagenti non mescolati.	1.Controllare tempi e temperatura Vedere più in basso "Scarsa precisione". Ripetere il test.
	2.Contaminazione crociata dei controlli.	2.Pipettare con cura.
	3.Diluzione scorretta.	3.Ripetere il test.
	4.Percorso ottico non pulito.	4.Controllare la pulizia o la presenza di bolle d'aria nei pozzetti . Pulire il fondo e rileggere.
Tutti i test risultano negativi	1.Tamponi o reagenti contaminati.	1.Controllare la torbidità delle soluzioni.
	2.Soluzioni di lavaggio contaminata.	2.Usare un contenitore pulito. Controllare la qualità dell'acqua usata per preparare la soluzione.
	3.Inadeguata diluizione del siero.	3.Ripetere il test.
Scarsa precisione	1.CV delle pipette maggiore del 5%.	1.Controllare la calibrazione delle pipette. Usare una tecnica riproducibile.
	2.Siero o reagenti non mescolati sufficientemente o non equilibrati a temperatura ambiente.	2.Mescolare tutti i reagenti gentilmente ma a fondo ed equilibrare.
	3.Aggiunta dei reagent troppo lunga; inconsistenza tra intervalli.	3.Pipettare in modo uniforme e usare pipette multi-tip o un dispensatore automatico per ridurre il tempo.
	4.Percorso ottico non pulito.	4. Controllare la presenza di bolle d'aria nei pozzetti. Pulire il fondo e rileggere.
	5.Lavaggio non consistente; bolle intrappolate; soluzione di lavaggio rimasta nel pozzetto.	5.Controllare riempimento e aspirazione uniformi in tutti i pozzetti. Dispensare il liquido sopra il livello dei reagenti nel pozzetto. Dopo l'ultimo lavaggio, vuotare i pozzetti battendo la striscia su carta assorbente.
	6. Pipettaggio scorretto	6. Evitare bolle nei puntali.

**REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR.
REFERANSER. REFERENSER**

1. **Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
2. **Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
3. **Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
4. **Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
5. **Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
6. **Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Número de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Número de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Número catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udløbsdato. Utløpsdato. Använd före.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefährdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Läs instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atención. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend für 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Inneholder tilstrækkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehåller tillräckligt för 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformità alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. Överensstämmer med direktiv 98/79/EG för medicintekniska produkter.

<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">Ag</td> </tr> </table>	Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.		
Ag				
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">DIL</td> </tr> </table>	DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.		
DIL				
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">CONJ</td> </tr> </table>	CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.		
CONJ				
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">BUF</td> <td style="text-align: center;">WASH</td> <td style="text-align: center;">30X</td> </tr> </table>	BUF	WASH	30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
BUF	WASH	30X		
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">SUBS</td> <td style="text-align: center;">pNPP</td> </tr> </table>	SUBS	pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.	
SUBS	pNPP			
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">CAL</td> <td style="text-align: center;">X</td> </tr> </table>	CAL	X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.	
CAL	X			
<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">CONTROL</td> <td style="text-align: center;">X</td> </tr> </table>	CONTROL	X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.	
CONTROL	X			

KORTFATTET DANSK INSTRUKTION.**Produktets anvendelse**

Wieslab® ASCA IgA test kit er et enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) til bestemmelse og kvantificering af IgA antistoffer rettet mod *Saccharomyces cerevisiae* i humant serum. Resultatet kan give vejledning ved udredning af mistanke om Crohn's sygdom. Analysen skal udføres af uddannede laboranter.

MÅ KUN ANVENDES TIL *IN VITRO* TEKNIK.

Prøvetagning

ASCA IgA analysen anvendes på serumprøver. Vær opmærksom på at flere reagenser og ikke mindst serumpøver kan indeholde infektiøst materiale. Undlad at analysere sera som er ikteriske, lipidholdige eller hæmolyserede. Varme inaktiverede sera kan give uspecifikke reaktioner og bør derfor ikke analyseres. Prøverne kan opbevares ved 2-8° C hvis analysen sker indenfor nogle få dage.

Langtidsopbevaring af sera skal ske ved - 20° C eller koldere. Anvend ikke fryserne med automatisk afrimning, da man risikere at sera bliver tøet og frosset og dermed nedbryder antistofferne. Prøver som opbevares forkert kan give forkerte resultater. NCCLS har givet anbefalinger om hvordan man opbevarer blodprøver. (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Sikkerhedsinformation

- Kun for *in vitro* diagnostik.
- Serum som anvendes ved præparation af kontroller og kalibratorer er testet negative for human immunodeficiency virus 1 og 2 (HIV 1 og 2), hepatitis C (HCV) og hepatitis B antigen. Bemærk at ingen metode helt kan garantere fravær af HIV, HCV, hepatitis B virus og andre infektiøse agens. Alle humane prøver må derfor betragtes som potentielt infektiøse og håndteres med forsigtighed.
- Center for Disease Control and Prevention (CDC) og National Institutes of Health (NIH) i USA anbefaler at potentielt infektiøse materialer håndteres i overensstemmelse med Biosafety Level 2.
- Alle opløsninger indeholder ProClin 300 som konserveringsmiddel. Brug aldrig mundpipette. Undgå at få reagens eller serum direkte på huden. Reagenser med ProClin 300 er irriterende og derfor skal kontakt med hun og øjne undgås. Hvis det sker at reagens kommer i kontakt med hud eller øjne, skyl med store mængder vand.
- Materiale-sikkerhedsdatablade for alle farlige komponenter i dette kit fås ved henvendelse til Euro Diagnostica.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Advarsel

Indeholder ProClin 300:

Blanding af: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

H317:	Kan forårsage allergisk hudreaktion.
P264:	Vask hænderne grundigt efter håndtering.
P280:	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjnebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
P302+352:	VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand.
P333+313:	Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp.

Nødvendig udstyr og materiale som ikke indgår i kittet.

- Spektrofotometer med filter på 405 nm.
- Præcisionspipetter med engangsspidser.
- Vaskemaskine til mikrotiterplader, filtrepapir, prøverør, minutur.

KIT komponenter og opbevaring af reagenser.

- En ramme med strips (break-apart) (12 x 8 brønde) belagt med mannan fra *Saccharomyces cerevisiae* og et låg. Alt er pakket i tætsluttende foliepose med tørringsmiddel.
- 1,5 mL negativ kontrol (NC), humant serum færdig fortyndet i "diluent".
- 1,5 mL positiv kontrol (PC), humant serum færdigfortyndet i "diluent".
- 13 mL konjugatopløsning, alkalisk phofatase-mærket anti-IgA antistoffer (blå farve).
- 32 mL fortyndingsnedsbuffer. "Diluent" (Dil) (rød farve).
- 13 mL færdigfortyndet substrat pNPP.
- 30 mL vaskebuffer, 30 x koncentreret.
- fem kalibratorer med fortyndet humant serum, 1,5 mL Cal 1 = 160 E/mL, 1,5 mL Cal 2 = 80 E/mL, 1,5 mL Cal 3 = 40 E/mL, 1,5 mL Cal 4 = 20 E/mL, 1,5 mL Cal 5 = 10 E/mL.

Alle reagenser i kittet er færdige til brug undtagen vaskebufferen. Opbevar kittet i køleskab ved (2–8° C)

Tag kun det antal strips ud som behøves. Resten skal opbevares i aluminiumsposen, som opbevares tillukket.

TESTPROCEDURE

Alle opløsningerne skal have stuetemperatur før de anvendes. Alle inkubationer skal ske ved stuetemperatur (20-25° C). Anvend låg for at undgå fordamning. Følgende inkubationstider gælder: Første inkubation med patientsera 30 minutter, inkubation med konjugat 30 minutter, substratinkubation 60 minutter(±10 minutter).

Tilberedning af vaskebuffer

Hvis der observers saltkrystal udfælding i flasken med koncentreret vaskeopløsning, skal flasken placeres i et 37°C vandbad indtil krystallerne er opløste. Derefter fortyndes vaskeopløsningen. 10 mL af den 30 x koncentrerede vaskebuffer tilsættes 290 mL destilleret vand. Den færdigfortyndede vaskebuffer holder til kittets udløbsdato, hvis den opbevares ve 2–8° C.

Prøvefortynding og inkubationstider

Fortynd patientprøve 1/50 med fortyndingsbuffer (490µL diluent+ 10µL serum)

tilsæt 100 µl/brønd i duplikat af følgende: diluent (blank værdi), kalibrator, NC, PC og patientprøver(P) efter nedenstående skema. Inkuber i 30 minutter med låg.

Kvantitativ analyse:

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Kvalitativ analyse:

1	2	3	4	5
Cal 5	P2			
Cal 5	P2			
NC	etc.			
NC				
PC				
PC				
P1				
P1				

Efter inkubering

Vask 3 gange med 300 µL vaskebuffer / brønd, vær omhyggelig med at tømme og fylde brøndene helt ved hver vaske cyclus .Efter sidste vask skal alle rester af buffer fjernes ved at slå mikrotiter stripsene mod absorberende papir.

Tilsætning af konjugat

Tilsæt 100 µL konjugatopløsning til hver brønd. Inkuber i 30 minutter.

Efter konjugat inkubering

Der vaskes som tidligere.

Tilsætning af substrat pNPP

Tilsæt 100 µL substrat pNPP i hver brønd, inkuber i 60 minutter (±10 minutter)

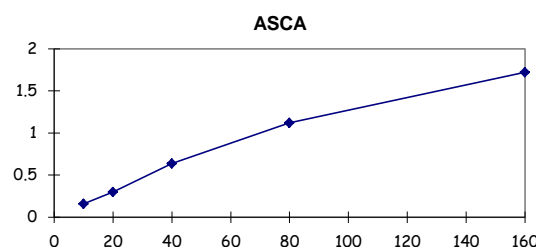
Aflæs absorbansen i spektrofotometer ved 405 nm.

Beregninger**Kvantitative analyse**

Træk absorbansen fra alle de øvrige prøvers absorbans.

Tegn en kalibreringskurve igennem de fem kalibratorers absorbans værdi mod deres respektive opgivne arbitrære E/mL. Aflæs patientens enhedsværdi på kurven. Værdier større end 160 skal angives >160, alternativt analyseres prøven om med en større fortynding. Testresultatet angives i arbitrære E/mL, da ingen erkendt international standard findes til angivelse af ASCA titre.

Eksempel: Kalibrator	E/mL	Absorbans
1	160	1,71
2	80	1,11
3	40	0,63
4	20	0,30
5	10	0,16



En prøve med en absorbans på 0,37 aflæses som 24 E/mL ASCA.

Vigtigt: Den viste kurve er kun et eksempel og må ikke anvendes til aflæsning af patientprøver.

Kvalitative analyse

Absorbanskvot for PC, NC og patientprøver berægnes efter:

$$\text{Absorbanskvot} = \frac{\text{Absorbans patientprøve}}{\text{Absorbans Kalibrator 5}}$$

Patientprøven er negativ hvis absorbanskvoten er < 1.2 og positiv hvis absorbanskvoten er >1,4.

Kvalitetskontrol**Kvantitative analyse**

Den negative kontrols absorbans skal være mindre end kalibrator 5

Absorbans for kalibrator 1 skal være > 1,0

Enhedsværdien for den positive og negative kontrol ses på lot certifikatet.

De negative og positive kontroller anvendes for at kontrollere at kittet fungerer teknisk. Hvis nogle værdier ikke falder inden for de angivne områder bør testen ikke godkendes og man skal lave analysen om.

Kvalitativ analyse

Absorbans for kalibrator 5 skal være 0,1–0,4

Enhedsværdien for den positive og negative kontrol ses på lot certifikatet.

Hvis nogle værdier ikke falder inden for de angivne områder bør testen ikke godkendes og man skal lave analysen om.

Tolkning af resultaterne

Kvantitativ analyse:	Kvalitativ analyse:
< 12 E/mL = Negativ	Absorbanskvot <1,2 = negativ
12-14 E/mL = Gråzon . Gentag testen, hvis der opnås samme resultat så anvend alternativ metode	1,2–1,4 = Gråzon
> 14 E/mL = Positiv	>1,4 = positiv

En enkelt patients antistof værdi kan ikke anvendes til at bedømme graden af sygdom idet antistoffer fra forskellige patienter adskiller sig med hensyn til affinitet, specificitet osv. Det er derfor svært at standardiserer denne type analyse. Man må ikke basere klinisk bedømmelse kun på analyseresultatet fra denne test. I stedet for skal analyseresultatet anvendes sammen med andre relevante parametre, ikke mindst almene kliniske (symptomer osv.) for korrekt at bedømme den specifikke kliniske situation. Det er kendt at sera fra patienter med andre autoimmune sygdomme og selv generelt raske personer kan vise krydsreaktivitet i analysen. Nogle individer kan med andre ord være positiv for ASCA IgA uden at have klinisk tegn på sygdom. Samtidig ved man, at der også forekommer patienter med aktiv sygdom, som er negativ for ASCA IgA. Behandling må ikke begyndes kun baseret på positivt ASCA resultat. Heller ikke må behandling påbegyndes eller ændres kun på grund af ændringer i ASCA titeren, men skal baseres på det totale kliniske billede. ASCA IgA koncentrationen i et specifikt serum kan variere ved analyse med forskellige testmetoder. Dette beror primært på forskelle i reagensers egenskaber og specificitet/sensitivitet som forekommer mellem de forskellige kit fra forskellige fabrikanter.

REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR. REFERANSER. REFERENSER

- Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
- Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
- Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
- Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
- Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
- Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Nmero de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partinummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Nmero de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Nmero catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udlbsdato. Utlpsdato. Använd fre.
	Temperature limit. Seuils de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefhrdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Ls instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atensin. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend fr 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Indeholder tilstrkkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehller tillräckligt fr 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément  la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformit alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. verensstmmes med direktiv 98/79/EG fr medicintekniske produkter.

Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.
DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.
CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.
BUF WASH 30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
SUBS pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.
CAL X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.
CONTROL X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.

KORTFATTET NORSK INSTRUKSJON**INDIKASJONER**

Wieslab® ASCA testsett er en ELISA-metode (enzyme-linked immunosorbent assay) for påvisning og semikvantisering av IgA-antistoffer mot mannan for *Saccharomyces cerevisiae* i humant serum. Assayet brukes til å påvise antistoffer i en enkelt serumprøve. Resultatene fra assayet skal brukes som en hjelp i diagnostiseringen av Crohns sykdom.

Analysen bør utføres av opplært laboratoriepersonell.

FOR BRUK VED IN VITRO DIAGNOSTISKE FORMÅL.

Advarsler og forsiktighetsregler

- For bruk ved in vitro diagnostiske formål.
- Komponentene i det humane serumet som brukes i klargjøringen av kontrollene og kalibratorene i settet er blitt testet for tilstedeværelse av antistoffer mot human immunsviktvirus 1 & 2 (HIV 1&2), hepatitt C (HCV) samt hepatitt B-overflateantigen etter FDA-godkjente metoder og funnet negative. Fordi ingen testmetoder kan gi fullstendig garanti om at HIV, HCV, hepatitt B-virus eller andre smittestoffer er fraværende, bør prøver og menneskebaserte reagenser håndteres som om de kan overføre smittestoffer.
- Sentra for sykdomskontroll og forebygging og helsemyndighetene anbefaler at smittestoffer håndteres på sikkerhetsnivå (biosafety level) 2.
- Alle løsninger inneholder ProClin 300 som konserveringsmiddel. Pipetter aldri med munnen og la aldri reagenser eller pasientprøver komme i kontakt med huden. Reagenser som inneholder ProClin kan være irriterende. Unngå kontakt med huden og øynene. Ved kontakt, skyll med store mengder vann.
- Konsentrasjonene av ANCA i en gitt prøve som er fremkommet med assayer fra forskjellige produsenter kan variere på grunn av ulikheter i analysemetoder og reagensspesifisitet
- Konsentrasjonene av anti-GBM i en gitt prøve som er fremkommet med assayer fra forskjellige produsenter kan variere på grunn av ulikheter i analysemetoder og reagensspesifisitet
- På forespørsel Euro Diagnostica gi HMS-datablad på alle farlige komponenter som inngår i settet.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Advarsel

Inneholder ProClin 300:

Reaksjonsmasse av: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

H317:	Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
P264:	Vask hendene grundig etter behandling.
P280:	Bruk vernehansker/ verneklær / vernebriller / ansiktsskjerm .
P302+352:	VED HUDKONTAKT: Vask grundig med såpe og vann.
P333+313:	Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.

Innsamling av prøver

ANCA-assayet er beregnet for bruk med serum. Håndteres som om de kan overføre smittestoffer. Unngå bruk av sera som er ikteriske, lipemiske og hemolyserte.

Varmedeaktiverte sera kan gi uspesifisert reaktivitet og bør ikke brukes. Oppbevar serum mellom 2-8°C hvis testing skal finne sted i løpet av fem dager. Hvis prøvene skal oppbevares i lengre perioder, må de oppbevares ved -20 °C eller kaldere. Frostfri fryser må ikke brukes fordi den kan la prøvene gå gjennom frysetiningssykluser og forringe antistoffene. Prøver som er ukorrekt oppbevart eller utsettes for flere frysetiningssykluser, kan gi falske resultater.

NCCLS gir anbefalinger for oppbevaring av blodprøver, (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Komponenter i settet og oppbevaring av reagenser

- En ramme med avrivbare brønner (12x8) dekket med mannanstrukturen for *Saccharomyces cerevisiae* og ett lokk forseglet i foliepakning med tørkepakke.
- 1,5 ml negativ kontroll (NC) som inneholder humant serum i fortytning.
- 1,5 ml positiv kontroll (PC) som inneholder humant serum i fortytning.
- 13 ml konjugat som inneholder alkaliske fosfatasemerkede antistoffer mot human IgA (blå farge).
- 32 ml fortytning (Dil) som inneholder PBS (rød farge).
- 13 ml substrat pNPP-løsning.
- 30 ml vaskeløsning konsentrert 30x.
- Fem kalibratorer som inneholder humant serum i fortytning. 1,5 ml Cal 1 = 160 E/ml,
- 1,5 ml Cal 2 = 80 E/ml, 1,5 ml Cal 3 = 40 E/ml, 1,5 ml Cal 4 = 20 E/ml, 1,5 ml Cal 5 = 10 E/ml.

Alle reagenser i settet er klare til bruk, bortsett fra vaskeløsningen og bør oppbevares ved 2-8 °C. Fjern bare det antall remser som er nødvendig for testing. Forsegle aluminiumspakningen nøye igjen.

Nødvendige materialer/utstyr som ikke følger med

- Mikroplateleser med filter, 405 nm.
- Presisjonspipetter med engangstupper.
- Vasker for remser, absorberende stoff, rør og en tidsmåler.

PROSEDYRE

Alle løsninger bør brukes ved romtemperatur.

Fjern bare det antall brønner som er nødvendig for testing. Forsegle aluminiumspakningen nøye igjen. Inkuber alltid ved romtemperatur (20-25° C) med lokk. Inkuber serumet i 30 minutter, konjuger i 30 minutter og aktiver substratet i 60 minutter (\pm 10 minutter).

Klargjøring av vaskeløsning

Dersom det observeres saltkrystaller i flasken med konsentrert vaskeløsning, plasseres flasken i et vannbad på 37°C til krystallene har løst seg opp før vaskeløsningen fortynnes. Fortynn 10 ml av den 30x konsentrerte vaskeløsningen i 290 ml destillert vann. Ved oppbevaring ved 2-8 °C er den fortynnede vaskeløsningen stabil til utløpsdatoen for settet.

Fortynning av serum og inkubasjon

Fortynn pasientserumet 1/50 med fortytning (490 μ l fortytning +10 μ l serum).

Kvantitativt assay: Pipetter 100 μ l/brønn fortytning i duplikat (som en blank), kalibrator 1, 2, 3, 4, 5, NC, PC og fortynnet pasientserum (P) i henhold til skjemaet nedenfor.

Kvalitativt assay: Pipetter 100 μ l/brønn i duplikat av kalibrator 5, PC, NC og fortynnet pasientserum (P) i henhold til skjemaet nedenfor. Inkuber i 30 minutter.

Kvantitativt assay:

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Kvalitativt assay:

1	2	3	4	5
Cal 5	P2			
Cal 5	P2			
NC	etc.			
NC				
PC				
PC				
P1				
P1				

Etter seruminkubasjon

Vask 3 ganger med 300 μ l vaskeløsning/brønn, ved å fylle og tømme brønnene hver gang; etter siste vasking tømmes brønnene ved å banke remsene mot det absorberende stoffet.

Tilsette konjugat

Tilsett 100 µl konjugat i hver brønn. Inkuber i 30 minutter. Etter konjugatinkubasjon, vask som tidligere.

Tilsette substratløsning

Tilsett 100 µl substratløsning i hver brønn, inkuber i 60 minutter (\pm 10 minutter).

Les av absorbansen ved 405 nm på en mikroplateleser.

Beregninger**Kvantitativt assay:**

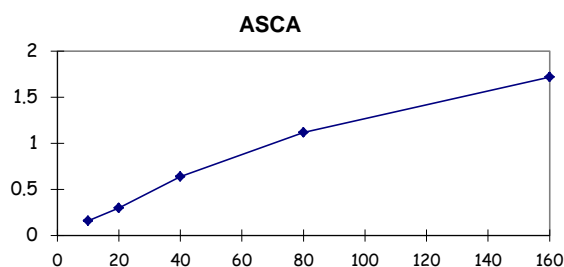
Trekk OD-verdien for den blanke fra de andre OD-verdiene.

Trekk opp en kalibratorkurve ved å plote OD mot enhetsverdiene for de 5 kalibratorene.

De fem kalibratorene som følger med er tildelt vilkårlige verdier på 160 E/ml for kalibrator 1, 80 E/ml for kalibrator 2, 40 E/ml for kalibrator 3, 20 E/ml for kalibrator 4 og 10 E/ml for kalibrator 5. Les av enhetsverdien for pasienten fra den opptrukne kurven. Verdier over 160 skal registreres som >160, eller analyseres på nytt med høyere fortykning.

Vilkårlig E/ml er innført siden det ikke finnes noen generelt anerkjente internasjonale standarder for å uttrykke ASCA-titre.

Eksempel:	Kalibrator	E/ml	Absorbans
	1	160	1,71
	2	80	1,11
	3	40	0,63
	4	20	0,30
	5	10	0,16



En prøve med en absorbansverdi på 0,37 vil avleses på X-aksen som å ha 24 E/ml ASCA

Viktig: Kurven er et eksempel og må ikke anvendes for faktisk pasienttolking.

Kvalitativt assay:

Et optisk tetthetsforhold (OD) for PC, NC av hver pasientprøve beregnes slik:

$$\text{OD ratio} = \frac{\text{OD pasientprøve}}{\text{OD for Cal 5}}$$

Pasientprøven er **negativ** hvis OD-forholdet er < 1,2 og **positiv** hvis OD-forholdet er > 1,4.

Kvalitetskontroll**Kvantitativt assay:**

OD for den negative kontrollen skal være under OD for kalibrator 5.

OD for kalibrator 1 skal være > 1,0

Verdien for den positive kontrollen står på lot-etiketten.

Negative og positive kontrollene er beregnet på å overvåke betydelig reagensfeil. Den positive kontrollen vil ikke sikre presisjon ved cut-off for assayet. Det anbefales å analysere en ekstra kontroll ved cut-off for assayet.

Kvalitativt assay:

OD for kalibrator 5 skal være mellom 0,1-0,4

Verdien for den positive og negative kontrollen står på lot-etiketten.

Forholdet for den negative kontrollen skal være < 1,2

Hvis noen av verdiene ikke ligger innenfor sine respektive områder, bør testen betraktes som ugyldig og testen gjennomføres på nytt. Flere kontroller kan testes i henhold til retningslinjene eller krav fra lokale eller statlige forskrifter eller godkjennelsesorganer. NCCLS C24-A for veiledning om korrekte kvalitetskontrollrutiner.

Tolking av resultatene

Kvantitativt assay:	Kvalitativt assay:
< 12 E/ml = Negativ	OD-forhold < 1,2 = Negativ
12-14 E/ml = Tvetydig ; test på nytt, hvis fremdeles tvetydig, test på nytt med en annen metode eller test en ny prøve	1,2-1,4 = Tvetydig
>14 E/ml = Positiv	> 1.4 = Positiv

En tvetydig eller positiv prøve bør alltid bekreftes med et kvantitativt assay.

Begrensninger

Den enkelte pasients antistofftiter kan ikke brukes som et mål på alvorlighetsgraden for en sykdom siden antistoffer fra forskjellige pasienter kan avvike fra hverandre med hensyn til affinitet. Derfor er det vanskelig å oppnå en absolutt standardisering av resultater. Testen bør ikke brukes som det eneste grunnlaget for beslutninger om klinisk behandling, men bør brukes i kombinasjon med kliniske symptomer og resultater fra andre tilgjengelige tester.

Sera fra pasienter med andre autoimmune sykdommer og fra normale personer kan inneholde potensielt kryssreaktive autoantistoffer. Noen personer kan være positive for ASCA-antistoffer med få eller ingen tegn på klinisk sykdom. På den annen side kan noen pasienter med aktiv sykdom ha uoppdagede nivåer av disse antistoffene. Behandling må ikke startes på grunnlag av et positivt ASCA-resultat. Oppstart eller endringer av behandling bør ikke baseres på endringer i ASCA-konsentrasjon alene, men på grundig klinisk observasjon.

REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR. REFERANSER. REFERENSER

- Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
- Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
- Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
- Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
- Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
- Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Número de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Número de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Número catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udløbsdato. Utløpsdato. Använd före.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefährdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Läs instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atención. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend für 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehåller tillräckligt för 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformità alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. Överensstämmer med direktiv 98/79/EG för medicintekniska produkter.

Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.
DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.
CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.
BUF WASH 30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
SUBS pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.
CAL X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.
CONTROL X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.

KORTFATTAD SVENSK INSTRUKTION

Produktens användning

Wieslab® ASCA test kit är en *enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* för bestämning och kvantifiering av IgA antikroppar i humant serum riktade mot *Saccharomyces cerevisiae* mannanstrukturer. Resultatet kan ge vägledning vid utredning av Crohns sjukdom. Analysen skall utföras av behörig personal.

FÖR *IN VITRO* DIAGNOSTIK ANVÄNDNING.

Provtagning

ASCA analysen är avsedd för serumprover. Tänk på att flera reagens och inte minst serumprovet potentiellt kan innehålla infektiösa agens. Analysera inte sera som är ikteriska, lipemiska eller hemolyserade. Värmeinaktiverat sera kan ge ospecifik reaktivitet och bör därför ej analyseras. Prover kan förvaras vid 2-8° C om analys sker inom några dagar. Långtidsförvaring skall ske vid -20° C eller kallare. Använd inte frysar med automatisk avfrostning då risk finns att prover töar under avfrostningarna. Prover som förvarats oriktigt kan ge felaktiga resultat. NCCLS har gett ut rekommendationer på hur man förvarar blodprover (Approved Standard-Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A, 1990).

Säkerhetsinformation

- Endast för *in vitro* diagnostik.
- Serum som använt vid preparation av kontroller och kalibratorer har testat negativt för antikroppar mot humant immunodeficiency virus 1 & 2 (HIV 1&2), hepatit C (HCV) och hepatit B ytantigen. Tänk dock på att ingen metod kan helt garantera frånvaron av HIV, HCV, hepatit B virus, eller andra infektiösa agens. Alla humana prov måste därför betraktas som potentiellt infektiösa och hanteras med försiktighet.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) och National Institutes of Health (NIH) i USA rekommenderar att potentiellt infektiösa material hanteras i enlighet med Biosafety Level 2.
- Alla lösningar innehåller ProClin 300 som konserveringsmedel. Pipettera aldrig med munnen. Undvik att få reagens eller patientprov direkt på huden. Reagens med ProClin 300 är irriterande och därför skall kontakt med hud och ögon undvikas. I händelse av att reagens kommit i kontakt med hud eller ögon, skölj med stora mängder vatten.
- På begäran kan Euro Diagnostica tillhandahålla säkerhetsdatablad om alla farliga komponenter som ingår i kitet.



BUF	WASH	30X
DIL		
CONJ		
CAL		

CONTROL	+
CONTROL	-
SUBS	pNPP

Varning

Innehåller ProClin 300:
Reaktionsmassa bestående av: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1)

H317:	Kan orsaka allergisk hudreaktion.
P264:	Tvätta händerna grundligt efter användning.
P280:	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansikts-skydd.
P302+352:	VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
P333+313:	Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.

Nödvändig utrustning och material som ej ingår i kitet

- Spektrofotometer med filter för 405 nm.
- Precisionspipetter med engångsspetsar.
- Tvättmaskin för mikrotiterplattor, torkpapper, provrör, timer.

Ingående reagens och förvaring

- En ram med strips (12x8 brunnar) belagda med mannan preparerat från *Saccharomyces cerevisiae*, och ett lock. Allt förpackat i en återförslutningsbar foliepåse med torkmedel.
- 1,5 mL negativ kontroll (NC), humant serum färdigspätt i "diluent".
- 1,5 mL positiv kontroll (PC), humant serum färdigspätt i "diluent".
- 13 mL konjugatlösning, alkaliskt fosfatas-märkta anti-IgA (blå färg).
- 32 mL spädningslösning "Diluent" (Dil), PBS (röd färg).
- 13 mL substrat pNPP.
- 30 mL tvättlösning, 30x koncentrerad.
- fem kalibratorer med utspätt humant serum. 1,5 mL Cal 1: 160 U/mL, 1,5 mL Cal 2: 80 U/mL, 1,5 mL Cal 3: 40 U/mL, 1,5 mL Cal 4: 20 U/mL, 1,5 mL Cal 5: 10 U/mL.
- Alla reagens i kitet är färdiga att använda utom tvättlösningen. Förvara kitet i kyl (+ 2-8° C).
- Tag endast ut det antal strips som behövs. Resten skall förvaras i aluminiumpåsen som förvaras tillsluten.

TESTPROCEDUR

Alla lösningar skall vara rumstempererade innan man använder dem. Alla inkubationer skall ske vid rumstemperatur (20-25° C). Använd lock för att undvika avdunstning. Följande inkubationstider gäller: första provinkubationen 30 minuter, inkubation med konjugat 30 minuter, substratinkubation 60 minuter (\pm 10 minuter).

Beredning av tvättlösning

Om saltkristaller observeras i flaskan med koncentrerad tvättlösning, placeras flaskan i 37 °C vattenbad tills kristallerna är upplösta, detta görs innan utspädning av tvättlösningen. Späd 10 mL av den 30x koncentrerade tvättlösningen med 290 mL destillerat vatten., Den spädda tvättlösningen håller till kittets utgångsdatum om man förvarar den vid 2-8° C.

Provspädning och inkubationstider

Späd patientprovet 1/50 med spädningsbuffert (490 μ L diluent + 10 μ L serum).

Kvantitativ analys: Pipettera 100 μ L/brunn i duplikat av följande: diluent (blankvärde), Kalibrator 1, 2, 3, 4, 5, NC, PC och patientprov (P) enligt nedanstående schema. Inkubera i 30 minuter.

Kvalitativ analys: Pipettera 100 μ L/brunn i duplikat av följande of Kalibrator 5, PC och patientserum (P) enligt nedanstående schema. Inkubera i 30 minuter.

Kvantitativ analys

	1	2	3	4	5
A	Dil	Cal 4	P1		
B	Dil	Cal 4	P1		
C	Cal 1	Cal 5	P2		
D	Cal 1	Cal 5	P2		
E	Cal 2	NC	etc		
F	Cal 2	NC			
G	Cal 3	PC			
H	Cal 3	PC			

Kvalitativ analys

1	2	3	4	5
Cal 5	P2			
Cal 5	P2			
NC	etc			
NC				
PC				
PC				
P1				
P1				

Efter provinkubering

Tvätta 3 gånger med 300 μ L tvättlösning/brunn, var noga med att helt tömma och fylla brunnarna i varje tvättcykel. Efter sista tvätten skall alla rester av vätska avlägsnas genom att slå mikrotiterstripsen mot ett absorberande papper.

Tillsättning av konjugat

Tillsätt 100 μ L konjugatlösning till varje brunn. Inkubera i 30 minuter.

Efter konjugat inkubering

Tvätta som tidigare.

Tillsättande av substratlösning

Tillsätt 100 μ L substratlösning i varje brunn, inkubera i 60 minuter (\pm 10 minuter).
Avläs absorbansen i en spektrofotometer vid 405 nm.

Beräkningar

Kvantitativ analys: Dra ifrån blankens absorbans från alla övriga provers absorbans.

Rita en kalibreringskurva genom att plotta de 5 kalibratorernas absorbansvärden mot deras respektive givna arbiträra U/mL. De 5 kalibratorerna har följande arbiträra värden: kalibrator 1: 160 U/mL, kalibrator 2: 80 U/mL, kalibrator 3: 40 U/mL, kalibrator 4: 20 U/mL, kalibrator 5: 10 U/mL. Avläs patientprovets enhetsvärde från kurvan. Värden större än 160 skall anges som >160, alternativt analysera om provet med större provspädning. Testresultat anges i arbiträra U/mL, då ingen erkänd internationell standard finns.

Kvalitativ analys: Absorbansen för respektive prov beräknas enligt följande formel:

$$\text{OD kvot} = \frac{\text{OD patient prov}}{\text{OD Kalibrator 5}}$$

Provet bedöms som negativt vid en kvot < 1,2 och positivt vid en kvot > 1,4.

Kvalitetskontroll

Kvantitativ analys: Den negativa kontrollens absorbans skall vara mindre än kalibrator 5.

Absorbansen för kalibrator 1 skall vara > 1,0. Enhetsvärdet för den positiva kontrollen (PC) – se lot certifikat. De negativa och positiva kontrollerna används för att kontrollera att kitet fungerar tekniskt.

Kvalitativ analys: Kalibrator 5 skall ha en absorbans mellan 0,1–0,4. Enhetsvärdet för den positiva och negativa kontrollen; se lot certifikatet. Negativa kontrollens kvot < 1,2.

Om något/några värden inte faller inom angivet område bör testen ej godkännas och man skall göra om analysen. Ytterligare kontroller kan analyseras, om så krävs av lokala myndigheter. Rekommendationer angående kvalitetskontroll kan fås ur NCCLSs dokument C24-A.

Tolkning av resultaten

Kvantitativ analys	Kvalitativ analys
< 12 U/mL = Negativt	Kvot < 1,2 = negativt
12-14 U/mL = Gråzon /tvetydigt	Kvot 1,2–1,4 = Gråzon /tvetydigt
> 14 U/mL = Positivt	Kvot > 1,4 = positivt

Vid resultat inom gråzon testa om. Om samma resultat uppnås, använd en alternativ metod.

Analysens begränsningar

- En enskild patients antikroppstiter kan inte användas för att bedöma graden av sjukdom då antikroppar från olika patienter skiljer sig med avseende på affinitet, specificitet etc. Det är därför svårt att standardisera denna typ av analys.
- Man får inte basera kliniska bedömningar enbart med ledning av analysresultat från detta test. Istället skall analysresultatet användas tillsammans med andra relevanta parametrar, inte minst allmänkliniska (symptom etc), för att korrekt bedöma den specifika kliniska situationen. Det är känt att sera från patienter med andra autoimmuna sjukdomar och även generellt friska individer kan uppvisa viss korsreaktivitet i analysen. Vissa individer kan med andra ord vara positiva för ASCA antikroppar utan övriga kliniska belägg för sjukdom. Samtidigt vet man att det också förekommer patienter med aktiv sjukdom som är negativa för ASCA antikroppar. Behandling får inte påbörjas enbart baserat på ett positivt ASCA resultat. Inte heller får behandling initieras eller ändras enbart på grund av ändringar i titern av ASCA utan skall istället baseras på den totala kliniska bilden.
- ASCA koncentrationen i ett specifikt serum kan variera efter analys med olika testmetoder. Detta beror primärt på skillnader i reagensers egenskaper och specificitet/sensitivitet som förekommer mellan kit från olika tillverkare.

**REFERENCES. RÉFÉRENCES. REFERENCIAS. LITERATUR. BIBLIOGRAFIA. LITTERATUR.
REFERANSER. REFERENSER**

1. **Main J, McKenzie H, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D.** Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers yeast) in Crohns disease. *BMJ* 1988, 297, 1105-1106.
2. **Barnes R, Allan S, Taylor-Robinson C, Finn R, Johnson P.** Serum antibodies reactive with *Saccharomyces cerevisiae* in inflammatory bowel disease: Is IgA antibody a marker for Crohns disease? *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990, 92, 9-15.
3. **Sendid B, Quinton J, Charrier G, Goulet O, Cortot A, Grandbastien B, Poulain D, Colobel J.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohns disease. *Am J Gastroenterol* 1998, 93, 1306-10.
4. **Quinton J, Sendid B, Reumax D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti- *Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *GUT* 1998,42,788-91.
5. **Kugathasan S, Werlin S.** Measurement of p-ANCA and ASCA in screening for IBD in young children. *Inflamm Bowel Dis* 1999, 5, 283-84.
6. **Vermeire S, Peeters M, Rutgeerts P.** Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology* 2000,47,44-48.

Explanation of symbols. L'explication de symboles. La explicación de símbolos. Erklärung der Symbole. La spiegazione di simboli. Forklaring til symboler. Symbolforklaring. Förklaringar till symboler.

	Batch code. Numéro de lot. Nmero de lote. Chargen-Nummer. Numero di lotto. Código do lote. Partnummer. Lot nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Référence catalogue. Nmero de catálogo. Katalog-Nummer. Numero di catalogo. Nmero catalogo. Katalognummer.
	Use-by date. Date de péremption. Fecha de caducidad. Verfallsdatum. . La data di scadenza. Prazo de validade. Udlbsdato. Utlpsdato. Använd fre.
	Temperature limit. Seuil de températures. Rango de temperature. Temperaturbereich. Limitazioni di temperatura. Limite de temperatura. Opbevaringstemperatur. Oppbevares ved. Förvaringstemperatur.
	Biological risk. Risque biologique. Riesgo biológico. Biologische Gefährdung. Rishio biologico. Risco biológico. Biologisk risk.
	Consult instructions for use. Lire le mode d'emploi. Consulte las instrucciones de uso. Gebrauchsanweisung beachten. Leggere le istruzioni per l'uso. Consultar as instruções de utilização. Se brugsanvisning. Se bruksanvisningen. Ls instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic medical device. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. In-vitro-Diagnostikum. Dispositivo medico-diagnostico in vitro. Dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> . In Vitro medisinsk diagnoseutstyr. In vitro diagnostik medicinsk utrustning.
	Warning. Attention. Atensin. Achtung. Attenzione. Atenção. Advarsel. Advarsel. Varning.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Fabrikant. Producent. Produsent. Tillverkare.
	Contains sufficient for 96 tests. Contenu suffisant pour 96 tests. Contenido suficiente para 96 pruebas. Inhalt ausreichend fr 96 Tests. Contenuto sufficiente per 96 test. Inneholder tilstrkkelig for 96 test. Inneholder tilstrekkelig for 96 test. Innehller tillräckligt fr 96 test.
	Conformity to 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Device Directive. Conformément  la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. La conformidad con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnstico in vitro. Konform mit Richtlinie 98/79/EG zu In-vitro-Diagnostika. Conformit alla direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. Medicinsk utstyr til in vitro-diagnostik, i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 98/79/EF. Medisinsk utstyr i samsvar med EU in vitro diagnostic directive 98/79/EF. verensstmmet med direktiv 98/79/EG fr medicintekniske produkter.

Ag	Antigen. Antigène, Antigeno. Antigene. L'antigene. Antigen. Antigen. Antigen.
DIL	Diluent. Diluant. Diluyente. Probenverdünnungspuffer. Il diluente. Fortynning. Spädningsbuffert.
CONJ	Conjugate. Conjugué. Conjugado. Konjugat. Conjugato. Konjugat. Konjugat. Konjugat.
BUF WASH 30X	Wash solution 30x conc. Solution lavage conc. 30x. Solución de lavado conc. 30x. Waschpuffer 30x konc. Soluzione di lavaggio 30x conc. Vaskebuffert 30x konc. Vaskeløsning 30x kons. Tvättbuffert 30x konc.
SUBS pNPP	Substrate pNPP. pNPP Substrat. Sustrato pNPP. Substrat pNPP. Substrato pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP. Substrat pNPP.
CAL X	Calibrator. Etalon. Calibrador. Kalibrator. Calibratore. Kalibrator. Kalibrator.
CONTROL X	Control. Contrôle. Control. Kontrolle. Controllo. Kontrol. Kontroll.

EURO DIAGNOSTICA AB

Lundavägen 151, SE-212 24 Malmö, Sweden

Phone: +46 40 53 76 00, Fax: +46 40 43 22 88

E-mail: info@eurodiagnostica.com

www.eurodiagnostica.com