

QUANTA Lite™ ASCA IgG (*S. cerevisiae*) 708865

Nur für "In-Vitro Diagnostik"

CLIA Kompliziertheit: Hoch

Verwendungszweck

QUANTA Lite™ ASCA (*S. cerevisiae*) IgG ist ein „Enzyme-linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) für die semi-quantitative Bestimmung von Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper (ASCA) des IgG Isotyps im Humanserum. Die Bestimmung dieser Antikörper gegen ASCA IgG unterstützt mit anderen serologischen Nachweisen und der Beurteilung des klinischen Bildes die Diagnostik von Morbus Crohn.

Informationen zum Test

Chronisch entzündliche Darmerkrankungen oder *Inflammatory bowel disease* (IBD) sind allgemeine Beschreibungen von Erkrankungen, die Entzündungen des Verdauungstraktes hervorrufen. Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sind die beiden häufigsten IBDs. Bei Morbus Crohn erfolgt die Entzündung im unteren Teil des Dünndarms (distales Ileum), kann aber alle Abschnitte des Verdauungskanal befällen. Die Entzündung reicht weit in das befallene Gewebe hinein, im Gegensatz zur Colitis ulcerosa, wo sich Entzündungen und Geschwüre an der Oberfläche des Kolon und Rektum bilden. Die Entzündung bei Morbus Crohn ist asymmetrisch und segmentiell, mit Bereichen von gesundem und erkranktem Gewebe, im Gegensatz zur Colitis ulcerosa, wo die

Entzündung symmetrisch und durchgehend vom Rektum proximal.¹⁻³ Sowohl Morbus Crohn als auch Colitis ulcerosa verlaufen chronisch, kommen bei Männern und Frauen zu ungefähr gleichen Teilen vor und sind am häufigsten in Nordeuropa und Nordamerika anzutreffen. Bei ungefähr 20 % der Morbus Crohn Patienten findet man in der Verwandtschaft eine Form von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Das Alter bei Ausbruch von Morbus Crohn liegt zwischen 15 und 30 Jahren, mit einem zweiten, kleineren Vorkommen im Alter von 50 bis 70 Jahren. Während des letzten Jahrzehnts haben mehrere Veröffentlichungen einen Zuwachs bei Morbus Crohn in verschiedenen Regionen festgestellt.⁴⁻⁷ Es gibt mehrere Theorien über die Ursache von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, jedoch wurde keine bewiesen. Da viele der Symptome von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa ähnlich sind, ist die Diagnose oft schwierig, zeitaufwendig und invasiv.¹⁻³ Ungefähr 10-12 % der Fälle sind nicht initial klassifizierbar und werden als „unbestimmte Colitis“ bezeichnet. Die Diagnose der Hälfte dieser Patienten lautet später auf Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa.⁸⁻¹⁰

Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antikörper (ASCA) wurden in signifikant höherem Maße bei Crohn's Patienten als bei Patienten mit Colitis ulcerosa oder bei gesunden Kontrollgruppen nachgewiesen.⁸⁻¹⁴ Diese Antikörper, die der IgG- und IgA-Immunglobulinklasse angehören können, sind gegen eine Mannan-Sequenz in der Zellwand von *Saccharomyces cerevisiae* gerichtet.¹⁴⁻¹⁶ Anti-*S.cerevisiae*-IgG oder IgA-Antikörper haben eine sehr hohe Spezifität für Morbus Crohn. In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde sie mit 100 % angegeben.⁸ Der Nachweis von ASCA kann ebenfalls sinnvoll für eine Differenzierung von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa bei manchen Patienten sein.⁸⁻¹⁰

Eine Untergruppe von Morbus Crohn Patienten scheinen keine ASCA Antikörper zu bilden. Ob diese Patienten eine eigene Gruppe mit spezifischen klinischen Charakteristika bilden, ist gegenwärtig noch nicht bekannt.

Testprinzip

Affinitätschromatographisch gereinigtes und zerkleinertes *S. cerevisiae* Antigen wurde an die Kavitäten der Polystyrol-Mikrotiterplatte unter Wahrung der ursprünglichen Konfiguration gebunden. Vorverdünnte Kontrollen und verdünnte Patientenserum werden in verschiedene Kavitäten pipettiert. Die vorhandenen ASCA IgG Antikörper binden an das Antigen. Der Rest der Probe/Kontrolle wird durch Waschen entfernt. Enzymmarkiertes anti-humanes IgG wird in die Kavitäten pipettiert und bindet während einer zweiten Inkubation an den Patienten-Antikörper. Nachdem in einem weiteren Waschschrift das restliche Konjugat entfernt worden ist, wird ein Chromogen-Substrat zugegeben. Die Intensität der entstandenen Farbreaktion wird nach dem Abstoppen mit dem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen. Die quantitative Auswertung erfolgt durch einen Vergleich der Extinktionswerte der Patienten mit dem Wert eines Kalibrators.

Inhalt der Testpackung

1. Mikrotiter-ELISA-Platte beschichtet mit hochgereinigtem *S. cerevisiae* Antigen (12-1 x 8 Kavitäten), mit Streifenhalter in Folienverpackung und Trockenmittel
2. ELISA Negative Kontrolle, 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum ohne humane Antikörper gegen *S. cerevisiae*, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
3. ASCA IgG ELISA Low Positive (Kalibrator), 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum mit Antikörpern gegen *S. cerevisiae*, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
4. ASCA IgG ELISA High Positive (positive Kontrolle), 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum mit Antikörpern gegen *S. cerevisiae*, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
5. HRP Probenverdünner, 1 Flasche – rosa gefärbt mit Tris-gepufferter Kochsalzlösung, Tween 20, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, 50 mL
6. HRP Waschkonzentrat, 1 Flasche mit 40fachem Konzentrat – rot gefärbt mit gepufferter Kochsalzlösung und Tween 20, 25 mL. Zur Verdünnung bitte das entsprechende Kapitel in der Anleitung beachten.
7. HRP IgG Konjugat, (Ziege), anti-humanes IgG, 1 Flasche – blau gefärbt mit Puffer, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, 10 mL
8. TMB Chromogen, 1 Flasche mit Stabilisatoren, 10 mL
9. HRP Stopplösung, 0,344M Schwefelsäure, 1 Flasche – farblos, 10 mL

Hinweise

1. VORSICHT: Probenverdünner, Kontrollen und Konjugat enthalten 0,02% Chloramphenicol. Es ist im US-Bundesstaat Kalifornien und allgemein bekannt, daß dieser Stoff Krebs verursachen kann.
2. Alle Reagenzien für die Herstellung dieses Tests wurden auf Antikörper gegen HIV, HBsAg und HCV getestet und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kontrollen wie potentiell infektiöses Humanserum oder Blutproben behandelt werden.¹⁷
3. NaN_3 wird als Stabilisator verwendet. NaN_3 ist ein Giftstoff und kann bei Einnahme toxische Reaktionen verursachen. Vorsichtig handhaben und Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Den Kontakt mit Metall, basischen Stoffen oder anderen Komponenten, die mit Säure reagieren können, vermeiden. Bei der Entsorgung von Reagenzien ist daher mit viel Leitungswasser nachzuspülen, um Ansammlungen im Abwassersystem zu verhindern.
4. Das HRP Konjugat enthält eine verdünnte Chemikalie, die bei Einnahme toxisch wirken kann. Daher den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
5. Das TMB Chromogen enthält ein Reizmittel, das bei Inhalation, Einnahme oder Absorption durch die Haut gesundheitliche Schäden verursachen kann. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
6. Die HRP Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure. Den Kontakt mit Basen, Metallen und anderen Stoffen, die mit Säure reagieren können, vermeiden. Schwefelsäure ist ein Giftstoff und kann bei Einnahme toxische Reaktionen hervorrufen. Den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
7. Die vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung während der Arbeit mit Reagenzien tragen.
8. Verschüttete Reagenzien sofort beseitigen. Bei der Entsorgung von Abfällen alle Umweltvorschriften beachten.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Dieser Test ist für "In-Vitro Diagnostik".
2. Die Verwendung anderer als im Testkit vorhandenen Komponenten kann zu widersprüchlichen Ergebnissen führen.
3. Unvollständiges Waschen und ungenügendes Entfernen der Flüssigkeiten aus den ELISA Kavitäten führt zu einer schlechten Präzision und zu hohen Hintergrund-Extinktionen.
4. Die Adaptation dieses Testsystems auf automatische Probenverarbeitung und andere Instrumentierung, ganz oder teilweise, kann unterschiedliche Ergebnisse zur manuellen Durchführung ergeben. Es liegt in der Verantwortung eines jeden Labors, die automatische Bearbeitung so zu überprüfen, daß Testergebnisse innerhalb akzeptabler Bereiche erzielt werden.
5. Eine Reihe von Faktoren beeinflusst das Testergebnis. Hierzu zählen die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Pipettierung, der Typ des verwendeten Photometers, die Temperatur der Reagenzien, die Umgebungs-Temperatur, die Gründlichkeit des Waschens und der Entfernung der Flüssigkeiten aus den Vertiefungen der ELISA-Streifen, und die Einhaltung der Inkubationszeiten. Es ist deshalb sehr wichtig, für gleichbleibende Bedingungen zu sorgen.
6. Die strikte Einhaltung der Testprozedur wird empfohlen. Jede Änderung im Protokoll erfolgt auf Risiko des Anwenders.
7. Das unvollständige Verschließen der Mikrotiterkavitäten und des Trockenmittels führt zu Antigenabbau und schlechter Präzision.
8. Eine unakzeptabel niedrige Absorption kann beobachtet werden, wenn eine Flasche HRP Konjugat bei **zwei-** oder mehrfachem Gebrauch über einen längeren Zeitraum benutzt wird. Daher ist es wichtig, die Hinweise zum Umgang mit dem HRP Konjugat genau zu beachten.
9. Chemische Kontamination des HRP Konjugates kann durch unzureichendes Reinigen oder Spülen der Ausrüstung oder der Instrumente verursacht werden. Rückstände gebräuchlicher Laborchemikalien wie z.B. Formalin, Bleichmittel, Ethanol oder Spülmittel führen zum Abbau des HRP Konjugates im Verlauf der Zeit. Das gründliche Spülen der gesamten Ausrüstung und Instrumentierung nach Verwendung chemischer Reinigungsmittel ist daher unbedingt erforderlich.

Lagerung

1. Lagerung aller Kit-Reagenzien bei 2-8°C. Nicht einfrieren. Die Reagenzien sind stabil bis zum Ende des Haltbarkeitsdatums bei vorschriftsmäßiger Lagerung und Handhabung.
2. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder in die Originalverpackung geben, luftdicht verschließen und in den Kühlschrank zurücklegen.
3. Der verdünnte Waschpuffer ist bei 2-8°C eine Woche stabil.

Proben

Die Testdurchführung sollte mit Serumproben erfolgen. Werden Azide oder andere Stabilisatoren zu den Serumproben gegeben, können die Ergebnisse nachteilig beeinflusst werden. Mikro-bakteriell kontaminierte, hämolytische, lipämische oder durch Hitzeeinwirkung inaktivierte Proben sollten nicht verwendet werden. Nach der Blutentnahme ist das Serum vom Blut zu trennen. Das NCCLS Dokument H18-A2 empfiehlt die folgenden Lagerungsbedingungen für Patientenproben: 1) Proben bei Raumtemperatur nicht länger als 8 Stunden lagern. 2) Kann die Testdurchführung nicht innerhalb von 8 Stunden erfolgen, die Proben bei 2-8°C kühl lagern. 3) Kann die Testdurchführung nicht innerhalb von 48 Stunden erfolgen ist die Probe bei -20°C oder niedriger einzufrieren. Eingefrorene Proben müssen nach dem Auftauen und vor der Testung gut geschüttelt werden.

Testdurchführung

In der Testpackung vorhandenes Material

- 1 ASCA IgG ELISA Mikrotiterplatte (12-1 x 8 Kavitäten), mit Streifenhalter

- 1 1,2 mL vorverdünnte ELISA Negative Kontrolle
- 1 1,2 mL vorverdünnte ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle
- 1 1,2 mL vorverdünnte ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle
- 1 50 mL HRP Probenverdünner
- 1 25 mL HRP Waschkonzentrat, 40faches Konzentrat
- 1 10 mL HRP IgG Konjugat (von der Ziege), anti-humanes IgG
- 1 10 mL TMB Chromogen
- 1 10 mL HRP Stopplösung, 0,344M Schwefelsäure

Zusätzliches benötigtes Material

- Pipetten für 5, 100, 200-300 und 500 µL
- Einmal-Pipettenspitzen
- Eppendorf-Reaktionsgefäße für die Serumverdünnung, 4 mL Volumen
- Distilliertes oder deionisiertes Wasser
- 1 L Gefäß für verdünntes HRP Waschkonzentrat
- Reader für Mikrotiterplatten mit 450 nm Filter (und 620 nm für eine bichromatische Messung)

Methode

Testvorbereitung

1. Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-26°C) und gründlich mischen.
2. Den gesamten Inhalt (25 mL) des Waschkonzentrats mit 975 mL Aqua dest. mischen (1:40 Verdünnung). Die verdünnte Pufferlösung ist bei 2-8°C eine Woche stabil. Soll nicht die gesamte Mikrotiterplatte auf einmal verwendet werden, so können für einen Ansatz von 16 Kavitäten 2 mL Konzentrat mit 78 mL Aqua dest. gemischt werden.
3. Serumproben 1:101 verdünnen, indem 5 µL Serum mit 500 µL gebrauchsfertigem Proben-verdünner gemischt werden. Verdünnte Proben sollen innerhalb von 8 Stunden getestet werden. Die ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle, die ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle **nicht verdünnen**.
4. Jeder Test benötigt zwei Kavitäten für jede der drei Kontrollen sowie eine oder zwei Kavitäten für die Patientenprobe (Es wird empfohlen, alle Proben in Doppelbestimmung anzusetzen, bis die erforderliche Präzision und Reproduzierbarkeit erreicht sind).

Testdurchführung

1. **ALLE REAGENZIEN UND PATIENTENPROBEN AUF RAUMTEMPERATUR (20-26°C) BRINGEN.** Die entsprechende Anzahl Mikrotiterkavitäten abbrechen. Die Kavitäten im Rahmen befestigen. **Die unbenutzten Kavitäten wieder in die Originalverpackung geben, luftdicht verschließen und in den Kühlschrank zurücklegen, um Verdunstung zu minimieren.**
2. Je 100 µL der **gebrauchsfertigen** ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle, der ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle, der ELISA Negative Kontrolle und der verdünnten Patientenproben in die entsprechenden Kavitäten pipettieren. Streifen abdecken und bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubieren. Die Inkubationszeit beginnt nach Zugabe der letzten Probe.
3. Waschen: Den Inhalt aller Kavitäten absaugen. Die Kavitäten vollständig (200-300 µL) mit **verdünntem** HRP Waschpuffer füllen und dann gründlich absaugen. Diesen Waschschrift noch zweimal wiederholen (Insgesamt: drei Waschschriffe). Anschließend die Platte auf saugfähigem Papier ausklopfen, um restliche Waschflüssigkeit zu entfernen. Die Wasch-schritte sind in der selben Reihenfolge wie die Pipettierschritte durchzuführen.
4. 100 µL des HRP IgG Konjugates in jede Kavität geben. Sterile Pipetten verwenden! Nur das benötigte Volumen an Konjugat aus der Flasche entnehmen. **UNBENUTZTES KONJUGAT NICHT IN DIE FLASCHE ZURÜCKPIPETTIEREN. KONTAMINATIONSGEFAHR!!** Abgedeckte Streifen bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubieren, wie in 2. beschrieben.
5. Waschen: Schritt Nr. 3 wiederholen.
6. 100 µL TMB Chromogen in jede Kavität geben. 30 Minuten **im Dunkeln** bei Raum-temperatur inkubieren.
7. 100 µL HRP Stopplösung in jede Kavität pipettieren. Bei der Hinzugabe der Stopplösung dieselbe Reihenfolge und Zeitplan wie bei der Hinzugabe des TMB Chromogens einhalten. Die Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln.
8. Die optische Dichte (OD) jeder Kavität bei 450 nm innerhalb einer Stunde nach Abstoppen der Reaktion ablesen. Es wird eine bichromatische Messung mit 620 nm als Referenzwellenlänge empfohlen.

Qualitätskontrolle

1. Die ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle, die ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle sollten bei jedem Testansatz mitgeführt werden, um sicher-zustellen, daß alle Reagenzien und der Testansatz insgesamt ordnungsgemäß funktionieren.
2. Da die ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle, die ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle vorverdünnt sind, entfällt der Verdünnungsschritt der Patientenproben für die Kontrollen.
3. Zusätzliche Kontrollen zur Qualitätssicherung können gemäß den Richtlinien nationaler oder internationaler Regulierungs- oder Akkreditierungsbehörden eingesetzt werden. Geeignete Kontrollen können aus Humanserum gewonnen und bei ≤-20°C gelagert werden.
4. Um sicher zu sein, daß alle Patientenwerte korrekt sind, müssen die nachfolgenden Kriterien erfüllt werden (Würden ein oder mehrere Kriterien nicht erfüllt, so ist das Ergebnis als ungültig zu betrachten und der Testansatz ist zu wiederholen).

- a. Die Absorption der vorverdünnten ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle muß größer sein als die Absorption der vorverdünnten ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle. Die Absorption der Low Positive Kontrolle wiederum muß größer sein als die der vorverdünnten ELISA Negativkontrolle.
- b. Die Absorption der vorverdünnten ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle muß größer als 1,0 sein, die Absorption der vorverdünnten Negative Kontrolle darf nicht größer als 0,2 sein.
- c. Die Absorption der ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle muß mehr als doppelt so hoch sein wie die der ELISA Negative Kontrolle sein oder über 0,25 liegen.
- d. Die ELISA Negative Kontrolle und die ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle dienen der Sicherstellung der ordnungsgemäßen Funktionsweise des Testansatzes. Die ASCA IgG ELISA High Positive Kontrolle stellt die Präzision am Cut-off des Tests nicht sicher.
- e. Der Anwender sollte unter anderem das NCCLS Dokument Nr. C24-A für zusätzliche Hinweise zur zeitgemäßen Qualitätskontrolle beachten.¹⁸

Berechnung der Ergebnisse

Zunächst sind die Mittelwerte der OD für die Doppelbestimmungen zu berechnen. Alle weiteren Berechnungen werden dann mit den entsprechenden Mittelwerten durchgeführt. Die Reaktivität jeder Patientenprobe wird bestimmt durch die Division des Mittelwertes der Proben-OD durch den Mittelwert der Low Positive Kontrolle und der Multiplikation dieses Ergebnisses mit dem chargenspezifischen Wert der ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle. Die chargenspezifischen Werte sind auf dem Fläschchenetikett aufgedruckt.

$$\text{Probenwert (Units)} = \frac{\text{OD der Probe}}{\text{ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrolle OD Wert}} \times \text{ASCA IgG ELISA Low Positive Kontrollwert (Units)}$$

Die Reaktivität verhält sich zur Konzentration der vorhandenen Antikörper nicht linear. Zunahme und Abnahme der Antikörperkonzentrationen von Patienten werden durch einen entsprechenden Anstieg oder Abfall der Reaktivität angezeigt, diese Änderungen sind jedoch nicht proportional (d.h. eine Verdoppelung der Antikörperkonzentration führt nicht zu einer Verdoppelung der Reaktivität). Wird eine genauere Quantifizierung der Patientenantikörper gewünscht, sind serielle Verdünnungen der Probe durchzuführen und der Titer der zuletzt als positiv gemessen wurde, sollte als Patienten-Antikörpertiter bewertet werden.

Interpretation der Ergebnisse

Dieser ELISA-Test ist sehr sensitiv und in der Lage, sogar kleine Unterschiede in Patientenpopulationen zu messen. Die folgenden Werte dienen als Beispiel für die Interpretation der Testergebnisse. Es wird empfohlen, daß sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Die Patientenprobe kann anschließend als negativ, (negativ für IgG Antikörper gegen *S. cerevisiae*), grenzwertig oder positiv (IgG Antikörper gegen *S. cerevisiae* nachgewiesen) positiv klassifiziert werden.

Negativ	Units 0,0 - 20
Grenzwertig	20,1 – 24,9
Positiv	≥25

Grenzwertige Proben sollten vor der endgültigen Beurteilung nochmals getestet werden.

1. Ein positives Ergebnis indiziert die Gegenwart von ASCA IgG Antikörpern und legt die Möglichkeit von Morbus Crohn nahe.
2. Bei einer Probe mit grenzwertigem ASCA IgG Wert kann kein Antikörperstatus bestimmt werden. Bleibt das Ergebnis nach wiederholter Analyse grenzwertig, sollte der Befund grenzwertig sein und/oder eine zusätzliche Probe entnommen werden.
3. Ein negatives Ergebnis deutet auf das Nichtvorhandensein von ASCA IgG Antikörpern hin oder auf Konzentrationen unterhalb der Erfassungsgrenze des Testsystems.
4. Wir schlagen vor, die Laborergebnisse mit folgendem Hinweis zu versehen: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem INOVA QUANTA Lite™ ASCA IgG ELISA erzielt. ASCA IgG Werte, die mit Testsystemen anderer Hersteller ermittelt wurden, können nicht untereinander ausgetauscht werden. Die Höhe des gefundenen IgG-Titers kann nicht mit einem Endpunkttiter in Korrelation gebracht werden.“

Grenzen des Verfahrens

1. Immunkomplexe oder andere Immunoglobulin-Aggregate im Patientenserum können nicht-spezifische Bindungen und falsch-positive Ergebnisse hervorrufen.
2. Ein negatives ASCA IgG Ergebnis schließt das Vorhandensein von Morbus Crohn nicht aus.
3. Ein negatives ASCA IgG Antikörper-Ergebnis schließt das Vorhandensein von Morbus Crohn nicht aus, da die Antikörperkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze des Testsystems liegen kann.
4. Ein positives Testergebnis zeigt nur das Vorhandensein von Antikörpern gegen *S. cerevisiae* und nicht notwendigerweise das Vorhandensein von Morbus Crohn an.
5. Ergebnisse dieses Testes müssen im Zusammenhang mit klinischen Ergebnissen und anderen serologischen Tests verwendet werden.
6. Die Leistungscharakteristika für pädiatrische Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa Patienten wurden noch nicht bestimmt.
7. Die Leistungscharakteristika für andere Untersuchungsmaterialien als Serum wurden nicht bestimmt.

Erwartungswerte

Das Vorkommen von Morbus Crohn wird auf 10 bis 198 Personen/100.000 geschätzt und scheint zuzunehmen⁴⁻⁷. Morbus Crohn tritt am häufigsten in Nordeuropa und Nordamerika auf. Männer und Frauen sind zu ungefähr gleichen Teilen betroffen.

Normalbereich

Ein kombiniertes Panel von 501 Proben von asymptomatischen, gesunden Personen aus Kalifornien, New York, Österreich, Luxemburg und Belgien wurde mit dem QUANTA Lite™ ASCA IgG ELISA Kit untersucht. Das Alter der Gruppe reichte von einem bis 75 Jahren. Für die fünf verschiedenen Regionen betrug die Spezifität zwischen 92 und 100 % (Durchschnitt 95,2 %). Keine (0/501) dieser Proben waren positiv für sowohl ASCA IgG als auch ASCA IgA Antikörper. Die Spezifität des ASCA IgG Tests, einschließlich aller nicht-Morbus Crohn Proben, (gesunde Kontrollgruppe plus andere Erkrankungen), lag bei 93,2% (663/711).

Relative Sensitivität und Spezifität

Klinisch definierte Proben von Patienten mit Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und Normalseren wurden mit dem QUANTA Lite™ ASCA IgG Kit getestet. Von den 102 Proben, die ASCA IgG und IgA gleichzeitig positiv waren, stammten bis auf zwei alle von Morbus Crohn Patienten. Kein Normalserum und nur zwei der Colitis ulcerosa Proben hatten ASCA IgG und IgA gleichzeitig. Das Alter der Morbus Crohn Patienten lag zwischen 17 und 64 Jahren, das der Colitis ulcerosa Patienten zwischen 19 und 71 Jahren.

Klinische Gruppe	N=	QUANTA Lite™ ASCA ELISA RESULTS			
		IgG Pos	IgA Pos	IgG oder IgA Pos	IgG und IgA Pos
Morbus Crohn	215	74,4% (157/211)	49,0 (103/210)	76,2% (160/210)	47,6% (100/210)
Colitis ulcerosa	161	14,2% (22/156)	1,9% (3/158)	14,6% (23/156)	1,3% (2/156)
Gesunde Kontrollgruppe	148	4,1% (6/145)	1,4% (2/147)	5,6% (8/144)	0% (0/144)

Hinweis: Grenzwertige Ergebnisse wurden nicht berücksichtigt.

Kreuzreaktivitätsstudien

Seren von 75 Patienten mit Autoimmun- oder Infektionserkrankungen und verschiedenen klinischen Befunden wurden mit dem QUANTA Lite™ ASCA (*S. cerevisiae*) IgG ELISA auf Kreuzreaktivität getestet. Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefasst.

Probentyp	N=	ASCA IgG Positiv (%)
Gliadin IgA positiv	12	0
Gliadin IgG positiv	8	2 (25%)
Transglutaminase IgA	7	0
Antinukleäre Antikörper (ANA) positiv	8	0
Autoimmune Hepatitis (AIH), Typ 1	15	1 (6,6%)
<i>H. pylori</i> positiv	10	0
Alkohol. Zirrhose Aszitis	1	0
Alkoholische Hepatitis	2	2 (100%)
Chronische Hepatitis C	6	1 (16,7%)
Chronische Lebererkrankung	2	0
Granulomatöse Hepatitis.s/pBCG Immuno rx Blasenkrebs	1	1 (100%)
Hepatitis NOS	1	0
Nicht-infektiöse Gastroenteritis	1	0
Esophageale Varize mit Blutungen	1	0

Präzision und Reproduzierbarkeit

Die Daten zur Intra-assay Varianz des QUANTA Lite™ ASCA (*S. cerevisiae*) IgG ELISA wurden durch die Testung von 6 Proben erstellt. Diese Proben wurden insgesamt 15-mal untersucht. Die Ergebnisse sind nachfolgend dargestellt.

	Spec.A	Spec.B	Spec.C	Spec.D	Spec.E	Spec.F
Durchschnitt units	75,6	13,1	116,6	29,9	10,4	44,8
SD	2,8	0,7	3,0	1,2	0,5	1,7
CV%	3,7	5,2	2,6	4,1	4,5	3,8

Die Inter-Assay Varianz wurde getestet, indem in Doppelbestimmung ein Panel von 8 Proben zweimal täglich 3 Tage lang getestet wurde.

	Spec.1	Spec.2	Spec.3	Spec.4	Spec.5	Spec.6	Spec.7	Spec.8
Durchschnitt units	47,7	11,7	123,5	38,8	49,3	117,7	14,9	6,6
SD	1,4	0,4	6,7	1,4	1,2	5,8	0,4	0,3
CV%	3,0	3,5	5,4	3,6	2,4	4,9	2,6	5,0

Referenzen

1. Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 1999. Whitehouse Station, NJ. (www.merck.com/pubs/mmanual).
2. Coche J-C and J-F Colombel. Heterogeneity of Inflammatory Bowel Disease: Clinical Subgroups of Patients. Res. Clin. Forums 20(1): 135-145, 1998.
3. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). Crohn's Disease. NIH Publication No. 98-3410, 1998.
4. (www.niddk.nih.gov/health/digest/pubs/crohns/crohns.htm).
5. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P and A Wajda. Epidemiology of Crohn's disease in a central Canadian province: a population-based study. Am. J. Epidemiol. 149(10): 916-924, 1999.
6. Loftus EV Jr, Silverstein MD, Sandborn WJ, Tremaine WJ, Harmsen WS and AR Zinsmeister. Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota, 1940-1993: incidence, prevalence, and survival. Gastroenterol. 114(6): 1161-1168, 1998.
7. Niv Y, Abuksis G and GM Fraser. Epidemiology of Crohn's disease in Israel: a survey of Israeli kibbutz settlements. Am J. Gastroenterol. 94 (10): 2961-2965, 1999.
8. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L and M van Blankenstein. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). Gut 39:690-697, 1996.
9. Ruellemele FM, Targan SR, Levy G, Dubinsky M, Braun J and ER Seidman. Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease. Gastroenterol. 115: 822-829, 1998.
10. Rutgeerts P and S Vermeire. Clinical value of the detection of antibodies in the serum for diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease. Gastroenterol. 115:1006-1022, 1998.
11. Panaccione R and WJ Sanborn. Is antibody testing for inflammatory bowel disease clinically useful? Gastroenterol. 116:1001-1008, 1999.
12. Main J, McKenzie H, Yeaman GR, Kjerr MA, Robson D and Pennington CR, et al. Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) in Crohn's disease. Brit. J. Med. 297:1105-1106, 1988.
13. McKenzie H, Main J, Pennington CR and D Parrat. Antibody to selected strains of *Saccharomyces cerevisiae* (baker's and brewer's yeast) and *Candida albicans* in Crohn's Disease. Gut 31:536-538, 1990.
14. Lindberg E, Magnusson K-E, Tysk C and G Jarnerot. Antibody (IgG, IgA, and IgM) to baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), yeast mannan, gliadin, ovalbumin and betalactoglobulin in monozygotic twins with inflammatory bowel disease. Gut 33: 909-913, 1992.
15. Sendid B, Colombel JF, Jacquinet PM, Faille C, Fruit J, Cortot A, Lucidarme D, Camus D and D Poulain. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's Disease. Clin. Diag. Lab. Immunol. 3(2):219-226, 1996.
16. Quinton J-F, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan SR, Colombel J-F and D Poulain. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. Gut 42:788-791, 1998.
17. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Center for Disease Control/National Institute of Health, 1999, Fourth Edition, (HHS Pub. # (CDC) 93-8395).
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1991. Internal quality control: Principles and definitions; Approved Guideline, NCCLS Document C24-A, Vol 11(6).

Hersteller:

INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
United States of America



Autorisierter Repräsentant:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Germany
Tel.: +49-6894-581020
Fax.: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

Technical Service
628865

888-545-9495
May 2005
Revision DEU7