

MASTAZYME™ Cardioliipin

MASTAZYME™ Cardioliipin IgG	REF 734011 UDI-DI 4250729700361	12 x 8 Tests
MASTAZYME™ Cardioliipin IgM	REF 734012 UDI-DI 4250729700361	12 x 8 Tests

Gebrauchsanweisung / Instructions for Use

**Nur zur Verwendung durch Fachpersonal /
For professional use only**



	Deutsch	Seiten	02–04
	English	Pages	05–08

MASTAZYME™ Cardioliplin

Verwendungszweck

Der MASTAZYME™ Cardioliplin IgG / IgM ist ein Enzymimmunoassay für den Nachweis und die Semiquantifizierung spezifischer IgG / IgM Autoantikörper gegen Cardioliplin in Humanserum und -plasma, die im Rahmen der Diagnose des Phospholipidsyndroms eingesetzt werden.

Der Assay eignet sich für den manuellen oder automatisierten Einsatz auf offenen EIA-Prozessorsystemen und ist ausschließlich für die professionelle In-vitro-Diagnostik bestimmt. Alle Labortestergebnisse sollten in Verbindung mit anderen klinischen Daten interpretiert werden. Die klinische Beurteilung und weitere Tests müssen berücksichtigt werden.

Wichtiger Hinweis zur Gebrauchsanweisung

Bei etwaigen Assay-relevanten Änderungen der Gebrauchsanweisung wird das auf der letzten Seite stehende Versionsdatum aktualisiert. Für einen Zeitraum von 3 Monaten nach Vergabe der neuen Versionsnummer werden die Änderungen auf einem farbigen Beiblatt gekennzeichnet. Bitte stellen Sie sicher, dass Sie immer mit der aktuellen Gebrauchsanweisung arbeiten.

Testprinzip

Das Testprinzip der ELISAs kann in vier Schritten beschrieben werden.

Seruminkubation

Spezifische Antikörper bilden mit Antigenen, die an die Festphase gebunden sind, einen stabilen Immunkomplex. Nach einer 30-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur werden unspezifisch gebundene Serumkomponenten durch Waschen entfernt.

Konjugatinkubation

Meerrettich-Peroxidase-markiertes Anti-Human-IgG/-IgM bindet an die entsprechenden Antikörper auf dem Festphasenantigen und bildet mit diesen einen stabilen Sandwich-Immunkomplex. Überschüssiges nicht gebundenes Konjugat wird nach der 30-minütigen Inkubation durch Waschen entfernt.

Substrat- und Stoppreaktion

Nach Zugabe des TMB-Substrats wird dieses durch das Enzymkonjugat umgesetzt. Es entsteht eine bläuliche Färbung. Nach 15 Minuten Inkubation wird die Reaktion durch Zugabe von 0,25 M Schwefelsäure (H₂SO₄) gestoppt. Die pH-Verschiebung führt zum Farbumschlag von blau nach gelb.

Auswertung

Die Reaktionsansätze können nun mit einem ELISA-Plattenreader bei 450 nm (empfohlene Referenzwellenlänge bei bichromatischer Messung: 600–690 nm) gemessen werden. Die Extinktion (OD) korreliert mit der Konzentration der spezifischen Antikörper.

Das Ergebnis kann aus einer Eichkurve abgelesen oder durch geeignete elektronische Kurvenberechnung (4-Parameter-Anpassung o.ä.) ermittelt werden.

Packungsinhalt

- STRIPS Mikrotiterstreifen**
12 Mikrotiterstreifen in einer Halterung mit je 8 einzeln abbrechbaren Wells, beschichtet mit dem Cardioliplin Antigen.
- CONTROL+ Positivkontrolle**
1 x 1,5 mL stabilisiertes humanes Plasma, gebrauchsfertig, kann in die Eichkurve integriert werden.
- CONTROL- Negativkontrolle**
1 x 1,5 mL stabilisiertes humanes Plasma, gebrauchsfertig, kann in die Eichkurve integriert werden.
- CAL 1-4 Kalibratoren 1-4**
4 x 1,5 mL stabilisiertes humanes Plasma, gebrauchsfertig, enthält antigenspezifische Antikörper.

	Anti-Cardioliplin Konzentration [U/mL]	
	IgG	IgM
Kalibrator 1	1	1
Kalibrator 2 (Cut-off)	10	8
Kalibrator 3	30	25
Kalibrator 4	120	100
Positivkontrolle *	60	50
Negativkontrolle *	5	4

* Für die chargenspezifische Konzentration siehe QC-Dokument.

- DIL Diluent**
2 x 60 mL Probediluent, gebrauchsfertig.
- CONJ G Enzymkonjugat**
1 x 12 mL Meerrettich-Peroxidase markiertes Anti-Human-IgG (Ziege), gebrauchsfertig.
- SUBS TMB-Substrat**
1 x 12 mL 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin, gebrauchsfertig.
- STOP Stopplösung**
1 x 12 mL 0,25 M H₂SO₄ (Schwefelsäure), gebrauchsfertig.
- WASH CONC Waschpuffer 10 x konz.**
2 x 50 mL Waschpuffer, vor Gebrauch 1:10 mit destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen, evtl. vor Gebrauch kurz auf 37 °C erwärmen, um mögliche Kristalle zu lösen.

Weitere verwendete Abkürzungen

1. **RTU** gebrauchsfertig

Zusätzlich benötigte Materialien

1. 5 µL-, 100 µL- und 500 µL-Pipetten oder Mehrkanalpipetten.
2. Photometer für Mikrotiterplatten mit 450 nm Filter (Referenzfilter 600–690 nm).
3. Waschgerät für Mikrotiterplatten (bei manuellem Waschen: Waschflasche).
4. Röhrchen für Serumverdünnungen.
5. Messzylinder.
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Den Test nur zur *in-vitro* Diagnostik verwenden! Reagenzien nicht schlucken oder einatmen. Die Sicherheitsbestimmungen des Labors sind zu beachten. Im Labor darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden.
2. Die im Kit enthaltenen Kontrollen / Kalibratoren sind Humanproben. Sie wurden auf Antikörper gegen das HI-Virus, HCV und HBsAg getestet und für negativ befundet. Dennoch sollten alle menschlichen Proben als potentiell infektiös angesehen werden. Infektionen durch infektiöses oder mikrobiell kontaminiertes Material können nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.
3. Serum- und Reagenz-Kontaminationen sollten mit Desinfektionsmitteln gesäubert und der Abfall entsprechend entsorgt werden.
4. Alle Reagenzien müssen vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18–24 °C) gebracht werden.
5. Vor der Verwendung sind die Reagenzien gut zu mischen. Heftiges Schütteln und Schaumbildung sind zu vermeiden.
6. Beim Pipettieren ist auf gleiche Zeitintervalle zu achten, um für alle Testansätze gleiche Bedingungen zu gewährleisten.
7. Beim Öffnen der Fläschchen ist eine Kontamination des Stopfens zu vermeiden. Es wird empfohlen, Einmalpipettenspitzen zu verwenden, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden. Um das Risiko möglicher Oxidationen zu minimieren, sind die Fläschchen nach Gebrauch sofort wieder zu verschließen.
8. Reagenzien verschiedener Kit-Chargen sollten nicht zusammen verwendet werden. Reagenzien sollten nicht miteinander gemischt werden.
9. Alle Reagenzien sind vor Ablauf des Verfallsdatums zu verwenden.
10. Gemäß den GLP (Good Laboratory Practice) oder entsprechenden Richtlinien sind alle Laborgeräte regelmäßig auf Funktion und Präzision zu prüfen, dies gilt z. B. für die Pipetten, Waschgeräte und ELISA-Reader.

11. Der Kontakt mit der Schwefelsäure enthaltenden Stopplösung und TMB-Substrat ist zu vermeiden. Bei Haut-, Augen- oder Schleimhautkontakt unverzüglich und gründlich mit Wasser waschen und einen Arzt aufsuchen. Alle Geräte sofort nach Gebrauch sorgfältig reinigen.

Lagerung und Stabilität

Alle Reagenzien bei 2–8 °C lagern.

Das Verfalldatum jedes Kitbestandteils ist auf dem entsprechenden Etikett vermerkt. Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht weiter verwenden.

Verdünnter Waschpuffer kann bei 2–8 °C gelagert werden. Unter diesen Bedingungen kann er bis zu 4 Wochen verwendet werden. Er muss allerdings vor Benutzung auf Raumtemperatur gebracht werden.

Nach dem Öffnen ist das angebrochene Kit innerhalb von 3 Monaten zu verwenden.

Probenmaterial

Es kann sowohl Serum als auch Plasma zur Bestimmung verwendet werden. Die Proben können 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung die Proben sofort nach Entnahme in Aliquots aufteilen und bei -20 °C einfrieren.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden!

Aufgetaute Proben sollten vor der Verwendung im Test gemischt (Vortex) werden.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben können falsche Ergebnisse ergeben.

Testdurchführung

1. Vorbereitung der Reagenzien und Proben

Alle Reagenzien und Proben vor Testbeginn mischen und auf Raumtemperatur (RT, 18–24 °C) bringen.

Probenvorbereitung: Vor der Analyse müssen Patientenproben mit Probendiluent 1:101 (z. B. 5 µL Serum + 500 µL Probendiluent) verdünnt werden.

Waschpuffer: Beim Vorliegen von Salzkristallen das Konzentrat auf 37 °C erwärmen und nach Lösung der Kristalle mischen.

Das Waschpuffer-Konzentrat mit destilliertem oder deionisiertem Wasser 1:10 verdünnen (z. B. 50 mL Konzentrat + 450 mL dest. Wasser). Sorgfältig mischen.

- Die Gebrauchsanweisung ist zu befolgen. Jegliche Abänderung oder Modifikation erfolgt in Verantwortung des Anwenders.
- Die Reagenzien sollten nur so lange wie nötig bei Raumtemperatur gelagert werden.
- Für die quantitative Auswertung ist mit jedem Testansatz eine Eichkurve zu erstellen.
- Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sollten in der wiederverschließbaren Alu-Verpackung bei 2–8 °C trocken gelagert werden.

2. Testablauf

Die benötigte Anzahl an Mikrotiterwells für Kalibratoren, Kontrollen und Proben vorbereiten.

Hinweis: Es können andere als die empfohlenen Inkubationsbedingungen gewählt werden. Bei Abweichung vom vorliegenden Protokoll (z. B. Inkubationstemperatur 37 °C statt RT) ist der Anwender für die Verifizierung des Tests verantwortlich.

1. Je 100 µL der vorverdünnten (1:101) Patientenproben, gebrauchsfertigen Kalibratoren und Kontrollen in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren.
2. Streifen bei RT für 30 Minuten inkubieren.
3. Platteninhalt verwerfen und Vertiefungen mit 3 x 300 µL gebrauchsfertigem Waschpuffer waschen. Rückstände von Waschpuffer sind durch Ausklopfen der Platten auf Fließpapier zu entfernen.
4. 100 µL Enzymkonjugat in alle Vertiefungen pipettieren.
5. Streifen bei RT für 30 Minuten inkubieren.
6. Waschen wie unter Punkt 3. beschrieben.
7. 100 µL TMB-Substrat pipettieren.
8. Streifen bei RT für 15 Minuten im Dunkeln inkubieren.
9. Reaktion durch Zugabe von 100 µL Stopplösung beenden.
10. Inhalt der Vertiefungen kurz mischen und anschließend bei 450 nm messen. Als Blank wird gegen Luft gemessen. Es wird empfohlen, als Referenzwellenlänge 600–690 nm zu verwenden. Die Konzentrationen können graphisch anhand der Eichkurve oder mittels Computersimulation berechnet werden.
Die entwickelte Farblösung sollte innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Stopplösung gemessen werden.

Auswertung und Interpretation

Qualitativ

Zur qualitativen Testauswertung wird der Kalibrator 2 verwendet. Eine Quantifizierung nur unter Verwendung des Cut-off-definierenden Kalibrators 2 ist nicht möglich.

Quantitativ

Die Konzentration in Patientenproben wird mit gängigen Computerprogrammen berechnet. Für die Berechnung der sigmoiden Kalibrationskurve ist z. B. die 4-Parameter-Anpassung geeignet.

Optional: Die Extinktionswerte der 4 Kalibratoren und die entsprechenden Konzentrationen definieren die Punkte der Eichkurve. Für das Zeichnen der Eichkurve eignet sich besonders halblogarithmisches Millimeterpapier. Die Konzentration der Kalibratoren (s. Etikett bzw. QC-Zertifikat) wird auf der Abszisse (x-Achse) aufgetragen, die entsprechenden Extinktionswerte auf der Ordinate (y-Achse). Die Kalibrationskurve verläuft in der loglin Auftragung sigmoid. Anhand dieser Kurve kann die Konzentration der Proben dann auf der Abszisse abgelesen werden.

Normal- /Grenzwerte

Anhand klinisch definierter Proben sowie gesunder Blutspender wurden nachstehende Normal- und Grenzwerte festgelegt. Es wird jedem Labor empfohlen, die eigenen Normwerte auf der Grundlage der von der lokalen Bevölkerung erhaltenen Ergebnisse festzulegen:

Anti-IgG

Negativ: < 10 U/mL

Positiv: > 10 U/mL

Anti-IgM

Negativ: < 8 U/mL

Positiv: > 8 U/mL

Interpretation der Ergebnisse

Kein Messergebnis darf für sich allein zu einer abschließenden Diagnose verwendet werden, sondern muss immer in Verbindung mit anderen Laborwerten und klinischen Befunden interpretiert werden.

Der Test erfasst Antikörper gegen Cardiolipin. Zur Stabilisierung der Cardiolipin-Festphase wurde β 2-Glycoprotein als Co-Faktor mit beschichtet. Es hat sich gezeigt, dass Proben, die Anti- β 2-Glycoprotein-Antikörper aufweisen, auf Cardiolipin-Assays positiv reagieren können.

Leistungsdaten

Klinische Leistung

Zum Nachweis der klinischen Leistungsfähigkeit wurden 33 (IgG), 30 (IgM) positive und 158 (IgG), 165 (IgM) negative klinische Proben (Serum und Plasma) getestet. Auf der Grundlage dieser Proben wurden die folgenden klinischen Leistungsparameter berechnet.

	Formel	Wert	
		IgG	IgM
Diagnostische Sensitivität	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	>99%	96.7%
Diagnostische Spezifität	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	98.1%	97.6%
Positiver Prädiktiver Wert (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	91.7%	87.9%
Negativer Prädiktiver Wert (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	>99%	99.4%
Effizienz	$\frac{(TP + TN)}{total}$	98.4%	97.4%
Positive Likelihood Ratio (PLR)	$\frac{Sens}{(1 - Spec)}$	>10	>10
Negative Likelihood Ratio (NLR)	$\frac{(1 - Sens)}{Spec}$	<0.1	<0.1

(Abkürzungen: TP: Richtig Positiv, TN: Richtig Negativ, FN: Falsch Negativ, FP: Falsch Positiv)

Präzision

Die Wiederholbarkeit wurde an einer Charge mit zwei verschiedenen Parametern über mehrere Messtermine hinweg nachgewiesen.

Die Reproduzierbarkeit wurde an mehreren Chargen über mehrere Messzeitpunkte hinweg nachgewiesen.

Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Referenzen

Die Referenzen finden Sie am Ende der Gebrauchsanweisung.

MASTAZYME™ Cardioliipin

Intended Purpose

The MASTAZYME™ Cardioliipin IgG / IgM is an enzyme immunoassay for the detection and semiquantification of specific IgG / IgM autoantibodies to Cardioliipin in human serum and plasma used in the framework of the diagnosis of phospholipid syndrome.

The assay is suitable for manual or automated use on open EIA processor systems and is intended for professional in vitro diagnostic use only. All laboratory test results should be interpreted in conjunction with other clinical data. The clinical judgement and further tests have to be taken into account.

Important Note for Use of these Kit Instructions

Any assay relevant changes to the kit instructions for use (IFU) will lead to a change of the version number at the bottom on the last page. All changes made will be identified on a separate sheet added to the IFU for a period of three months from the date of a change of the version. Please ensure that the latest version of the IFU is used for the assay procedure.

Principle of the Test

The ELISA test can be described in four stages:

Serum incubation

Specific antibodies bind to antigens on the solid phase to form a stable immune complex. After incubation for 30 minutes at room temperature the wells are washed to remove all non-reactive serum components.

Conjugate incubation

The anti-human-IgG/-IgM horseradish peroxidase conjugate is added to all wells. The conjugate binds to IgG/IgM antibodies on the solid phase antigen to form a stable sandwich immune complex. After incubating for 30 minutes at room temperature the excess conjugate is removed by washing all wells with wash buffer.

Substrate reaction and stopping

The TMB substrate is dispensed into each well and the peroxidase enzyme/substrate reaction forms a stable blue chromogen. The reaction and consequent colour development is stopped after a 15 minute incubation at room temperature by adding 0.25 M H₂SO₄ to the wells. The shift in pH also causes the chromogen to change colour from blue to yellow.

Interpretation

The colour intensity is read in a microtiter plate reader at 450 nm (recommended reference wavelength for bichromatic measurement: 600–690 nm). The intensity of the colour (OD) is directly proportional to the concentration of the specific antibody in the patient sample.

The results can be read from a calibration curve or with an electronic graphing package using a 4 parameter sigmoidal curve.

Kit Contents

- STRIPS** Microtiter strips
12 single strips in a holder, each with 8 break-apart wells coated with purified Cardioliipin respectively.
- CONTROL+** Positive Control
1 x 1.5 mL stabilized human plasma, ready-to-use, can be integrated into the calibration curve.
- CONTROL-** Negative Control
1 x 1.5 mL stabilized human plasma, ready-to-use, can be integrated into the calibration curve.
- CAL 1-4** Calibrators 1-4
4 x 1.5 mL stabilized human plasma, ready-to-use, containing antibodies against the above mentioned antigens.

	Anti-Cardioliipin concentration [U/mL]	
	IgG	IgM
Calibrator 1	1	1
Calibrator 2 (Cut-off)	10	8
Calibrator 3	30	25
Calibrator 4	120	100
Positive Control *	60	50
Negative Control *	5	4

* For batch specific concentration see QC document.

- DIL** Diluent
2 x 60 mL sample diluent, ready-to-use.
- CONJ G** Enzym conjugate
1 x 12 mL HRP-labelled goat anti-human-IgG, ready-to-use.
- SUBS** TMB substrate
1 x 12 mL 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine, ready-to-use.
- STOP** Stopping solution
1 x 12 mL 0.25 M H₂SO₄ (sulfuric acid), ready-to-use.
- WASH** **CONC** Wash buffer 10 x concentrated
2 x 50 mL Wash buffer solution, to be diluted 1:10 with distilled or deionized water prior to use; the concentrate should be warmed up to 37 °C for 15 min to dissolve any crystals

Further Abbreviations

- RTU** ready to use

Materials Required but not Provided

1. 5 µL-, 100 µL- and 500 µL micropipettes or a multichannel pipette (optional).
2. Microtiter plate reader with a 450 nm filter (reference filter 600–690 nm).
3. Microtiter plate washer (if washing manually: wash bottle).
4. Reagent tubes for serum dilution.
5. Measuring cylinder.
6. Aqua dest. or HPLC grade water.

Warnings and Precautions

1. For *in vitro* diagnostic use only! Do not ingest! Laboratory safety precautions should be followed. Do not eat, drink or smoke in the laboratory.
2. The control/calibrator materials of human origin provided have been tested for antibodies to HIV, HCV and for HBsAg and found to be negative. However, they should be treated as potentially infectious materials and capable of transmitting diseases. No guarantee is given that the samples are free of infections or microbial contamination.
3. Serum and reagent spills should be cleaned with a disinfectant and the refuse disposed of appropriately.
4. All reagents should be brought to room temperature (18 to 24 °C) before starting the test procedure.
5. Before pipetting, all reagents should be mixed thoroughly. Vigorous shaking leading to formation of foam should be avoided.
6. It is important to pipette with constant time intervals, so that all the wells of the microtiter plate have the same reaction conditions.
7. When pipetting reagents out of the bottles care has to be taken that the stoppers are not contaminated. Furthermore, disposable pipette tips are strongly recommended to avoid cross contamination. The contents of the bottles are usually sensitive to oxidation so should be opened only for a short time.
8. No reagents from different kit batches should be used and reagents should not be mixed with one another.
9. All reagents should be used within the listed shelf life.
10. In accordance with Good Laboratory Practice (GLP) all laboratory equipment should be checked regularly regarding accuracy and precision. This refers e.g. to microliter pipets and washing or ELISA reader instrumentation.
11. Certain reagents are irritants, especially the Stopping solution and TMB substrate. Avoid contact with skin, eyes and mucosal membranes. In case of accident, rinse with water and seek medical attention. Clean all equipment after use to avoid secondary contact incidents.

Storage and Stability

Store all reagents at 2–8 °C.

The expiry date of each reagent is printed on the individual labels. Do not use any reagents after the expiry date has been exceeded.

The diluted wash buffer is stable for up to 4 weeks when stored at 2–8 °C. However, ensure that this is at room temperature before testing.

Kits should be used within three months of opening.

Sample Material

Both serum and plasma can be used for testing. Samples can be stored at 2–8 °C for up to 3 days, although for longer storage periods they should be aliquoted and kept at -20 °C.

Repeated freezing and thawing is contra-indicated.

Thawed samples should be mixed (vortex) before used in the test!

Lipaemic, haemolytic, icteric or bacterially contaminated samples can cause false positive or false negative results.

Test Procedure

1. Preparation of Reagents Samples

Allow all kit components and specimens to reach room temperature (RT, 18–24 °C) prior to use and mix well.

Sample preparation: Patient sera should be prediluted 1:101 in sample diluent (e.g. 5 µL serum + 500 µL sample diluent) prior to testing.

Washing buffer: Dissolve any crystals which may be in the bottle by warming to 37 °C and then mix well.

Dilute the concentrated washing buffer 1:10 with distilled water (e.g. 50 mL buffer concentrate + 450 mL distilled water). Mix thoroughly.

- Strictly follow the instructions. The user takes sole responsibility for any modifications to the test procedure.
- Reagents should not be left at room temperature for longer than necessary.
- A standard calibration curve should be established with each assay for quantitative results.
- Store any unused microtiter strips in the resealable aluminium bag provided and store under dry conditions at 2–8 °C.

2. Assay steps

Prepare a sufficient amount of microtiter wells for the calibrators, controls and samples.

Note: Other incubation conditions are possible. However, in case of modifications to the recommended test procedure (e.g. an incubation temperature of 37 °C instead of RT) assay performance should be verified by the user.

1. Pipette 100 µL each of the diluted (1:101) samples and the ready to use calibrators and controls into the appropriate wells.
2. Incubate the test strips at room temperature for 30 minutes.

3. Discard the contents of the microwells and wash 3 times with 300 µL of diluted wash buffer. Afterwards remove residual wash buffer by gentle tapping of the microtiter plate onto a paper towel.
 4. Pipette 100 µL of enzyme conjugate solution into each well.
 5. Incubate the test strips for 30 minutes at room temperature.
 6. Perform the washing step according to point 3.
 7. Pipette 100 µL of TMB substrate into each well.
 8. Incubate for 15 minutes in the dark (e.g. drawer) at room temperature.
 9. Add 100 µL of stopping solution to each well.
 10. After carefully mixing read the optical density at 450 nm. Blank against air. A bichromatic measurement using a reference wavelength of 600–690 nm is recommended. Concentrations can be plotted with an electronic graphing package or by hand against the calibration curve.
- After adding the stopping solution the developed colour is stable for at least 30 minutes. Read optical densities during this time.

Interpretation of Results

Qualitative

Calibrator 2 is used for qualitative interpretation of the assays, depending on specificity requirements to include or eliminate borderline results. A quantitative interpretation is not possible when only using calibrator 2 alone.

Quantitative

The results can be calculated using a computer and suitable software program. In this case the results are calculated using a 4 parameter fit algorithm to produce a sigmoidal curve.

Optional: A standard curve is plotted by entering the mean absorbance of each calibrator on the Y-axis and the corresponding concentration on the X-axis using either log/log or linear/log graph paper. The concentration of the controls and specimen can then be read directly from the graph.

Suggested normal values

In a normal range study using serum samples from healthy blood donors and disease-state sera the following normal and elevated ranges have been established. It is recommended that each laboratory should establish its individual normal ranges based on results obtained from the local population.:

Anti-IgG
 Negative: < 10 U/mL
 Positive: > 10 U/mL

Anti-IgM
 Negative: < 8 U/mL
 Positive: > 8 U/mL

Interpretation

Results can be affected by several patient factors. Clinical diagnosis and disease prognosis should not be based on a single test result. Other lab data and clinical observations must be taken into consideration before a conclusive diagnosis can be made.

The MASTAZYME™ Cardioliipin detects antibodies directed against Cardioliipin structures. To stabilise the Cardioliipin on the solid phase β2 glycoprotein is used as a co-factor. Samples containing anti-β2-glycoprotein antibodies may cross-react with the cardioliipin.

Performance Characteristics

Clinical performance

To demonstrate clinical performance 33 (IgG), 30 (IgM) positive and 158 (IgG), 165 (IgM) negative clinical samples (serum and plasma) were tested. Based on these the following clinical performance parameters were calculated.

	Formula	Value	
		IgG	IgM
Diagnostic Sensitivity	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	>99%	96.7%
Diagnostic Specificity	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	98.1%	97.6%
Positive predictive value (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	91.7%	87.9%
Negative predictive value (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	>99%	99.4%
Efficiency	$\frac{(TP + TN)}{total}$	98.4%	97.4%
Positive likelihood ratio (PLR)	$\frac{Sens}{(1 - Spec)}$	>10	>10
Negative likelihood ratio (NLR)	$\frac{(1 - Sens)}{Spec}$	<0.1	<0.1

(Abbreviations: TP: True positive, TN: True negative, FN: False negative, FP: False positive)

Precision

Repeatability was demonstrated on one batch with two different parameters over multiple measurement dates.

Reproduceability was demonstrated on multiple batches over multiple measurement dates.

Reporting serious incidents

All serious incidents that have occurred in connection with the device must be reported to the manufacturer and competent authority of the member state in which the user and / or patient is established.

References

You can find the references at the end of the instruction for use.

Referenzen / References:

1. Autoantibodies, Eds. J.B. Peter, Y. Shoenfeld, 1996, Elsevier
2. Autoantikörper, K.Conrad, 1998, Pabst Science Publishers
3. Hughes, G.R.V., Harris, E.N. and Gharavi, A.E. The Anticardiolipin Syndrome. J. Rheumatol. 1986; 13,3: 486-489.

Änderungshistorie / Change history:

Change history includes changes to significant aspects of the assay / IFU.

Chapter	Description of change
Intended Purpose	Adjustment of the wording to clarify the intended purpose
Performance Characteristics	Adjustment of display for positive and negative likelihood ratio

**Mast Diagnostica GmbH,**

Feldstraße 20,
23858 Reinfeld,
Deutschland

Tel: +49 (0)4533 2007 0

Fax: +49 (0)4533 2007 68

email: mast@mast-diagnostica.de

Web: www.mast-group.com

Mast Group Ltd.

Mast House, Derby Road
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom

Tel: +44 (0)151 472 1444

Fax: +44 (0)151 944 1332

email: sales@mastgrp.com

Web: www.mast-group.com

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France

Tél: +33 (3) 22 80 80 67

Fax: +33 (3) 22 80 99 22

email: info@mast-diagnostic.fr

Web: www.mast-group.com

Verwendete Symbole gemäß DIN EN ISO 15223-1

Icons are used according to DIN EN ISO 15223-1