

## VERWENDUNGSZWECK

Das Zeus **AtheNA Multi-Lyte®** Rheumatoid-Faktor (RF) IgM Plus Testsystem ist für den qualitativen und/oder quantitativen Nachweis von RF-Antikörpern der IgM-Klasse bestimmt. Das Testsystem ist für den Gebrauch als Hilfsmittel bei der Diagnose der rheumatoiden Arthritis bestimmt. Dieser Test ist nur für *In-vitro*-Diagnosen bestimmt.

## BEDEUTUNG UND HINTERGRUND

Die rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronische, für gewöhnlich progressive entzündliche Erkrankung der Gelenke. Die RA ist eine äußerst variable Erkrankung, die von einer schwachen Krankheit von kurzer Dauer bis hin zu einer progressiven, destruktiven Polyarthrit in Verbindung mit einer systemischen Vaskulitis reicht (1). Jüngsten Schätzungen zufolge wird davon ausgegangen, dass die Krankheit bei ein bis zwei Prozent der allgemeinen Bevölkerung auftritt (2), und dass ihr Auftreten bei Frauen doppelt so wahrscheinlich ist wie bei Männern (1).

Zu den klinischen Merkmalen der frühen Erkrankung gehören Lymphadenopathie, Anorexie, Schwäche, Müdigkeit und Morgensteife oder generelle Schmerzen (1, 3). Die RA ist mit zahlreichen Eigenschaften assoziiert, die mittels Laboruntersuchungen messbar sind (4). Zu den häufigsten Laborbefunden im Zusammenhang mit einer RA gehören der Rheumatoid-Faktor (RF), antinukleäre Antikörper (ANA), Immunkomplexe und charakteristische Komplementspiegel (3). Eine bedeutende Rolle bei der Diagnose der RA spielt die Messung von RF IgM im Serum, und seit kurzem wird sie auch zur Krankheitsprognose herangezogen (6).

Der RF gehört zu einer Gruppe von Immunoglobulinen, die typisch als Antikörper definiert werden, die mit dem Fc-Teil von humanen (und einigen anderen Arten von) IgG-Molekülen reagieren (1, 4). Der RF ist ein polyklonaler Antikörper, der mit einer Vielzahl von bestimmenden Faktoren auf dem IgG-Molekül reagiert (4). Es gibt RF von drei wesentlichen Immunoglobulin-Klassen: IgM, IgG und IgA. Allerdings wurden auch Ige RF beschrieben (5). Die häufigsten RF sind IgM- und IgG-RF (1), wobei der IgM-RF bei 75 % der Patienten vorkommt, bei denen eine RA diagnostiziert wurde (4). Der RF ist ebenfalls mit einigen bakteriellen und Virusinfektionen assoziiert worden, wie zum Beispiel Hepatitis und infektiöser Mononukleose, sowie einigen chronischen Infektionen, wie zum Beispiel Tuberkulose, parasitären Erkrankungen, subakuter bakterieller Endokarditis und Krebs (1). Erhöhte RF-Spiegel können ebenfalls bei 15 % der über 65jährigen Bevölkerung beobachtet werden (4).

## PRINZIP DES TESTS

Das ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystem ist für den Nachweis von Rheumatoid-Faktor-Antikörpern der IgM-Klasse in humanen Seren bestimmt. Das Testverfahren umfasst zwei Inkubationsschritte:

- Die (ordnungsgemäß verdünnten) Testseren werden in einem Gefäß, das eine Multiplex-Mischung der Bead-Suspension enthält, inkubiert. Die Bead-Suspension enthält eine Mischung aus unterscheidbaren Sets von Polystyrol-Mikrosphären (Beads); jedes mit einem anderen Antigen konjugiert. Wenn RF IgM in den Seren des Patienten vorkommt, wird es bei einem oder mehreren der Bead-Sets an das immobilisierte Antigen gebunden. Die Beads werden gespült, um nicht-reaktive Serumproteine zu entfernen.
- Phycoerythrin-konjugiertes Ziegen-Anti-Human-IgG wird in das Gefäß hinzu gegeben, und die Platte wird inkubiert. Das Konjugat reagiert mit dem in der festen Phase in Schritt 1 immobilisierten IgM-Antikörper. Dann wird die Beadsuspension mit dem AtheNA Multi-Lyte Instrument analysiert. Das/die Bead-Set(s) wird/werden klassifiziert (identifiziert), und die Reporter-molekülmenge (PE-Konjugat) wird für jedes Bead-Set bestimmt. Unter Verwendung der *Intra-Well Calibration Technology®* werden die inneren Kalibrations-Bead-Sets verwendet, um die Roh-Fluoreszenz in Ergebnisse (Einheiten) umzuwandeln.

## KOMPONENTEN DES TESTSYSTEMS

### Gelieferte Materialien:

Jedes Testsystem enthält die folgenden Komponenten in ausreichenden Mengen, um die auf der Verpackung angegebene Anzahl von Tests durchzuführen. **HINWEIS: Folgende Komponenten enthalten <0,1 % (Gtrmm-Vol.- %) Natriumazid als Konservierungsmittel: Bead-Suspension, Kontrollen, Konjugat und SAVE Diluent®.**

SOLN	BEAD	1. Bead-Suspension: Enthält separate unterscheidbare 5,6 Mikron Polystyrol-Beads, die mit affinitätsgereinigten Human-IgG konjugiert sind. Die Bead-Suspension enthält ebenfalls ein Bead-Set, das zum Nachweis von nicht-spezifischen Antikörpern in der Patientenprobe (falls vorhanden) bestimmt ist, sowie vier getrennte Bead-Sets, die für die Test-Kalibration verwendet werden. Eine gelbe Flasche mit 5,5 ml Inhalt. Gebrauchsfertig.
CONJ		2. Konjugat: Phycoerythrin-konjugiertes Ziegen-Anti-Human-IgG ( $\mu$ -kettenspezifisch). Eine gelbe Flasche mit 15 ml Inhalt. Gebrauchsfertig.
CONTROL	+	3. Positiv-Kontrollflüssigkeit (humanes Serum): Eine Ampulle mit roter Verschlusskappe und 0,2 ml Inhalt.
CONTROL	-	4. Negativ-Kontrollflüssigkeit (humanes Serum): Eine Ampulle mit grüner Verschlusskappe und 0,2 ml Inhalt.
DIL	SPE	5. SAVE Diluent®: Eine Flasche mit grüner Verschlusskappe mit 50 ml Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung. Gebrauchsfertig. <b>HINWEIS: Das SAVE Diluent® ändert beim Mischen mit Serum seine Farbe.</b>
WASHBUF	10X	6. Waschpuffer-Konzentrat (10X): Verdünnung: 1 Teil Konzentrat mit 9 Teilen deionisiertem oder destilliertem Wasser. Eine Flasche mit durchsichtiger Verschlusskappe mit 50 ml der 10-fach konzentrierten Phosphat-gepufferten Kochsalzlösung.

### HINWEISE:

- Die folgenden Komponenten sind nicht abhängig von der Testsystem-Chargennummer und können alle mit dem ZEUS AtheNA Multi-Lyte Testsystem eingesetzt werden: **Waschpuffer und SAVE Diluent®**
- Das Testsystem enthält außerdem:
  - Komponentendatenetikett mit chargenspezifischen Informationen im Testsystem-Karton.
  - Kalibrations-CD mit chargenspezifischen Kit-Kalibrationswerten, die für die Probenanalyse und die Test-Qualitätskontrolle erforderlich sind, sowie Packungsbeilage.
  - Eine 96-Mulden Verdünnungsplatte.
  - Eine 96-Mulden Filtrationsplatte.

## VORSICHTSMASSNAHMEN

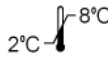
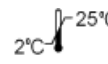
- Zum Gebrauch bei der *In-vitro* Diagnostik.
- Bei der Handhabung von Laborreagenzien normale Vorsichtsmaßnahmen einhalten. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Ordnungsgemäße Schutzkleidung, Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen. Dämpfe nicht einatmen. Entsorgung der Abfälle unter Einhaltung aller örtlichen, Landes- und Bundesgesetze.
- Die **AtheNA Multi-Lyte** Bead-Suspension enthält keine lebensfähigen Organismen. Trotzdem sollte das Reagenz als **potentieller biologischer Gefahrenstoff** angesehen und entsprechend gehandhabt werden.
- Die Kontrollflüssigkeiten sind **potenzielle biologische Gefahrenstoffe**. Die Quellenmaterialien dieser Produkte wurden mit anerkannten Testmethoden negativ auf HIV-1-Antigen, HBsAg und auf Antikörper gegen HCV und HIV getestet. Keine Testmethode kann jedoch eine komplette Gewähr dafür liefern, dass keine infektiösen Agenten vorhanden sind, und deshalb sind diese Produkte gemäß Biosicherheitsstufe 2 zu behandeln, wie für alle potenziell infektiösen humanen Serum- oder Blutproben im Handbuch „Biosafety in Microbiological und Biomedical Laboratories“ der Centers for Disease Control/National Institutes of Health in der aktuellen Ausgabe sowie dem „Standard for Bloodborne Pathogens“ von OSHA (9) empfohlen.

- Einhalten der angegebenen Inkubationszeit und Temperatur ist entscheidend für richtige Ergebnisse. Bevor mit dem Test begonnen wird, müssen alle Reagenzien Raumtemperatur (20 - 25 °C) erreicht haben. Bewahren Sie nicht benutzte Reagenzien unverzüglich nach Gebrauch wieder an einem gekühlten Aufbewahrungsort auf.
- Unsachgemäßes Waschen kann falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse erzeugen. Sicherstellen, dass Waschmittelreste auf ein Minimum reduziert werden (z.B. durch Trocknen mit Papier oder Aspiration), bevor Konjugat zugefügt wird. Die Mulden zwischen den Inkubationen nicht austrocknen lassen.
- Das SAVE Diluent®, die Bead-Suspension, die Kontrollen und das Konjugat enthalten Natriumazid in einer Konzentration von <0,1 % (w/v). Natriumazid bildet Blei- und Kupferazide in Laborabflussrohren, die bei Rohrleitungsschlägen Explosionen verursachen können. Waschbecken nach dem Ausgießen von natriumazidhaltigen Lösungen gründlich ausspülen, um Explosionen zu verhindern.
- Das Waschpufferkonzentrat ist ein REIZMITTEL. Es wirkt reizend auf Augen, Atmungssystem und Haut.
- Verdünnung oder Verpanschung der Reagenzien kann falsche Ergebnisse erzeugen.
- Keine Reagenzien aus anderen Quellen oder von anderen Herstellern verwenden.
- Niemals mit dem Mund pipettieren. Kontakt der Reagenzien und Patientenproben mit der Haut und den Schleimhäuten vermeiden.
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden. Es kann zu fehlerhaften Ergebnissen kommen.
- Querkontamination von Reagenzien und/oder Proben kann fehlerhafte Ergebnisse erzeugen.
- Spritzen oder Erzeugung von Aerosolen vermeiden.
- Reagenzien während der Lagerung oder bei der Inkubation keinem starken Licht aussetzen. Die Bead-Suspension und das Konjugat sind lichtempfindliche Reagenzien. Beide wurden in Lichtschutzbehältern verpackt. Eine normale Exposition, die während der Durchführung des Tests erfolgt, beeinflusst das Testergebnis nicht. Diese Reagenzien nicht unnötig starken Quellen sichtbaren Lichts aussetzen.
- Die Waschlösung in einem Entsorgungsbassin sammeln. Die verbrauchte Lösung mit einem Desinfektionsmittel behandeln (z. B. 10 %iges Haushaltsbleichmittel - 0,5 % Natriumhypochlorit). Es ist zu vermeiden, die Reagenzien bleichenden Dämpfen auszusetzen.
- Vorsicht: Flüssigkeitsabfälle mit saurem pH vor Zufügen in die Bleichlösung neutralisieren.
- Konjugat nicht mit Behältern oder Instrumenten in Kontakt kommen lassen, die vorher eine Lösung mit Natriumazid als Konservierungsmittel enthalten haben könnten. Rückstände von Natriumazid können die Enzymaktivität des Konjugats unterbinden.
- Keines der reaktiven Reagenzien bleichmittelhaltigen Lösungen oder strengen Gerüchen von bleichmittelhaltigen Lösungen aussetzen. Spuren von Bleichmittel (Natriumhypochlorit) können die biologische Aktivität vieler reaktiver Reagenzien in diesem Testsystem unterbinden.

### NICHT ENTHALTENE NOTWENDIGE MATERIALIEN

- Pipetten mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 10 bis 200 µl.
- Multikanal-Pipette mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 10 bis 200 µl.
- Reagenzreservoirs für Multikanal-Pipetten.
- Serologische Pipetten.
- Einweg-Pipettenspitzen.
- Papierhandtücher.
- Labor-Stoppuhr zur Überwachung der Inkubationsschritte.
- Entsorgungsbassin und Desinfektionsmittel (z. B. 10 %iges Haushaltsbleichmittel - 0,5 % Natriumhypochlorit).
- AtheNA Multi-Lyte System** (Luminex® Instrument) mit Sheath Fluid (Produktnummer 40-50035).
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
- Vortexmischer.
- Kleiner Badsonikator.
- Plattenschüttler zum Betrieb bei einer Geschwindigkeit von 800 UPM (optional für Mischvorgang).
- Vakuum-Sauger und Vakuum-Röhrenkollektor zum Waschen der Mikrosphären.

### AUFBEWAHRUNG

	Bead-Suspension: Zur Analyse der zu testenden Präparate nur die benötigte Menge der Lösung entnehmen, und den unbenutzten Teil wieder an den Aufbewahrungsort bringen.
	Konjugat: NICHT EINFRIEREN.
	Ungeöffnetes Testsystem, Positivkontrollen, Negativkontrolle, SAVE Diluent®
	Waschpuffer (1X): 20 - 25°C bis zu 7 Tage, 30 Tage zwischen 2 - 8°C. Waschpuffer (10X): 2 - 25°C

### PROBENAHME

- Es wird von ZEUS Scientific empfohlen, dass die Probenahme durch den Benutzer in Übereinstimmung mit dem aktuellen CLSI-Dokument M29: Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (aktuelle Ausgabe) erfolgt.
- Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit geben, dass durch humane Blutproben keine Infektionen übertragen werden. Deshalb müssen alle Blutderivate als potenziell infektiös behandelt werden.
- Für diesen Test nur frisch entnommene und richtig gekühlte Sera verwenden, die mit zugelassenen aseptischen Venenpunkturnverfahren gewonnen wurden. Nicht verwenden, wenn Antikoagulanzen oder Konservierungsmittel zugefügt sind. Verwendung von hämolytierten, lipemischen oder bakteriell kontaminierten Sera vermeiden.
- Bewahren Sie die Probe bei Raumtemperatur nicht länger als 8 Stunden auf. Erfolgt der Test nicht innerhalb von 8 Stunden, können Sera zwischen 2 und 8 °C bis zu 48 Stunden lang aufbewahrt werden. Wird eine noch längere Testverzögerung vorausgesehen, Testsera bei -20 °C oder darunter aufbewahren. Mehrfaches Einfrieren/Auftauen vermeiden. Das kann zum Verlust der Antikörper-Aktivität führen und fehlerhafte Ergebnisse bewirken. Jedes individuelle Labor ist dafür verantwortlich, alle verfügbaren Referenzen und/oder eigenen Studien zur Bestimmung seiner laboreigenen Stabilitätskriterien heranzuziehen (10).

### TESTVERFAHREN

- Die verschiedenen Komponenten aus der Aufbewahrung holen und auf Zimmertemperatur (20–25 °C) erwärmen lassen. °C).
- Gesamtanzahl der zu testenden Kontrollen und Proben bestimmen. Es ist erforderlich, bei jedem Durchlauf die Negativ- und Positivkontrolle durchzuführen. Die Negativkontrolle sollte in Mulde A1 und die Positivkontrolle in Mulde B1 getestet werden. Für jede Kontrolle und Probe wird zur Bearbeitung eine Mikro-Mulde benötigt.
  - Zur Optimierung der Lesezeiten muss die Bead-Suspension direkt vor Gebrauch gründlich gemischt werden. Die effektivste Möglichkeit zur Resuspension ist es, die Suspension zuerst ca. 30 Sekunden lang im Vortex-Mischer zu schütteln und sie dann ca. 30 Sekunden lang einer Sonikation in einem kleinen Badsonikator zu unterziehen.
  - Für ein genaues Testergebnis ist es wichtig, die Inhaltsstoffe des Tests gründlich zu mischen. Zu einer geeigneten Mischmethode gehört das Mischen der Platte auf einem Plattenschüttler für etwa 30 Sekunden bei einer Geschwindigkeit von etwa 800 UPM oder die Einführung eines Pipettierers zu ungefähr ½ des auf der Platte befindlichen Volumens und wiederholtes Ansaugen und Ausstoßen (Ein- und Auspumpen) des Muldeninhalts mindestens je 5 Mal.

BEISPIEL PLATTENEINSTELLUNG		
	1	2
A	Negativkontrolle	usw.
B	Positiv-Kontrollflüssigkeit	
C	Patient 1	
D	Patient 2	
E	Patient 3	
F	Patient 4	
G	Patient 5	
H	Patient 6	

- Herstellung einer 1:21 Verdünnung (z. B. 10 µL Serum + 200 µL SAVE Diluent®) von Negativkontrolle, Positivkontrolle und jedem Patientenserum. **HINWEIS: Das SAVE Diluent® zeigt eine Farbänderung, wodurch bestätigt wird, dass die Probe mit dem Verdünnungsmittel kombiniert worden ist.** Für ein genaues Testergebnis ist es wichtig, die Probenverdünnungen gründlich gemäß 2b oben zu mischen.
- Nach Festlegung der Gesamtzahl der zu bearbeitenden Mulden, verwenden Sie eine Multikanal- oder eine Wiederholpipette, um 50 µL der Bead-Suspension in jede der Mulden der Filtrationsplatte zu geben.
- Übertragen Sie 10 µL jeder verdünnten Probe (1:21) und Kontrolle von der Verdünnungsplatte auf die Filtrationsplatte. Für ein genaues Testergebnis ist es wichtig, die Probenverdünnung und die Bead-Suspension gründlich gemäß 2b oben zu mischen.
- Platte bei Zimmertemperatur (20-25 °C) 30 ± 10 Minuten lang inkubieren.
- Nach der Inkubation die Beads durch Vakuumfiltration unter Verwendung des mitgelieferten Waschpuffers spülen. Der Waschpuffer muss dafür auf 1-fache Konzentration verdünnt werden.
  - Filtrationsplatte auf den Vakuum-Röhrenkollektor aufsetzen, und die Lösung unter Zurücklassen der Beads entfernen.
  - Vakuum abstellen und 200 µL des 1-fach konzentrierten Waschpuffers hinzufügen.
  - Stellen Sie das Vakuum ein und entfernen Sie die Lösung.
  - Schritte 7b und 7c insgesamt dreimal wiederholen, um dreimal zu spülen.
- Nach der letzten Wäsche den Boden der Filterplatte leicht abtupfen und die Platte 3 bis 5 Minuten lang an der Luft trocknen lassen, bevor zum nächsten Schritt übergegangen wird.
- 150 µL Konjugat in jede Mulde hinzufügen, und zwar genauso schnell und in derselben Reihenfolge wie die Proben. Für ein genaues Testergebnis ist es wichtig, das Konjugat und die Bead-Suspension gründlich gemäß 2b oben zu mischen. Als Alternative kann während des Mischens des Konjugats die Mischung in leere Mulden einer Polystyrol-Reaktionsplatte übertragen werden.
- Platte bei Zimmertemperatur (20-25 °C) 30 ± 10 Minuten lang inkubieren.
- Zum Einstellen des **AtheNA Multi-Lyte** Instruments für die Analyse der Reaktionen ist die RF IgM Plus Schablone auszuwählen. Einzelheiten bezüglich der Benutzung des **AtheNA Multi-Lyte** Instruments sind im Bedienungshandbuch zu finden. Die Ergebnisse können von der Filterplatte oder einer Reaktionsplatte abgelesen werden. **HINWEIS: Für eine genaue Analyse der Probe ist es wichtig, dass das Instrument gemäß den Anweisungen des Herstellers aufgebaut, kalibriert und gewartet wird.** Bevor die Testergebnisse abgelesen werden, bitte im Handbuch des Instruments die Anweisungen zur Vorbereitung des Instruments lesen.
- Das Ablesen von der Platte sollte innerhalb von 60 Minuten nach Beendigung der Konjugat-Inkubation erfolgen. Die Platte kann vor dem Ablesen nach freier Entscheidung etwa 15 Sekunden lang geschüttelt werden. Dieser optionale Schritt reduziert möglicherweise den zum Ablesen der Platte erforderlichen Zeitaufwand.

Schritt	Kurze Beschreibung des Testverfahrens
1	Verdünnen der Proben 1:21 in SAVE Diluent®. Gut mischen.
2	50 µL der Bead-Suspension und 10 µL der verdünnten Probe zusammen in eine leere Mulde geben. Gut mischen.
3	Bei Zimmertemperatur 30 ± 10 Minuten lang inkubieren.
4	Mikrosphären dreimal mit 200 µL des 1-fach konzentrierten Waschpuffers spülen.
5	Boden der Platte leicht abtupfen und 3 - 5 Minuten an der Luft trocknen lassen.
6	150 µL des Konjugats in jede Mulde hinzugeben. Gut mischen.
7	Auf eine Reaktionsplatte übertragen (optional).
8	Bei Zimmertemperatur 30 ± 10 Minuten lang inkubieren.
9	Platte schütteln (optional).
10	Ergebnisse innerhalb von 60 Minuten ablesen.

### QUALITÄTSSICHERUNG

**Vorsicht:** Die Negativ- und Positivkontrollen sind dazu gedacht, das substantielle Versagen von Reagenzien zu überwachen. Die Positivkontrolle gewährleistet keine Präzision beim Test-Cut Off.

- Bei jeder Durchführung des Tests ist es notwendig, die Negativkontrolle (in Mulde A1) und die Positivkontrolle (in Mulde B1) durchzuführen.
- Die Aussagekraft des Durchlaufs hängt von der Durchführung der Positiv- und Negativkontrollen ab. Diese Kriterien werden automatisch durch die *Intra-Well Calibration Technology* analysiert.
  - Die Negativ- und die Positivkontrolle müssen beide negativ auf das nicht-spezifische oder Kontroll-Antigen-Bead sein.
  - Die Negativkontrolle muss negativ für jeden einzelnen in der Bead-Suspension enthaltenen Analyten ausfallen.
  - Die Positivkontrolle muss positiv für eine vorbestimmte, in der Multiplex Beadsuspension enthaltene, Analytengruppe ausfallen. Die Positivkontrolle muss ein positives RF-Ergebnis aufweisen. Zusätzlich zum qualitativen Ergebnis muss die Positivkontrolle sich innerhalb der für die entsprechende Aktivität festgelegten Spannweiten befinden. Diese Spannweiten sind innerhalb der Kalibrations-CD kodiert.
  - Sollte irgendeines der oben genannten Kriterien nicht zutreffen, wird der gesamte Durchlauf als ungültig angesehen und muss wiederholt werden. **Keinen Bericht für die Patientenergebnisse erstellen.**
- Die Aussagekraft der Proben basiert auf den Merkmalen der Kalibrations-Beads und ihrer Wechselwirkungen mit den Patientenseren. Verschiedene Parameter werden automatisch durch die *Intra-Well Calibration Technology* überwacht. Sollte sich herausstellen, dass irgendeines der Kriterien außerhalb der Spezifikation liegt, werden die Patientenergebnisse als ungültig angesehen und müssen wiederholt werden. In einem solchen Fall wird im Datenbericht die entsprechende, ungültig gemachte Probe sowie ein Fehler-Code angegeben.
- Zusätzliche Testkontrollen können in Übereinstimmung mit Richtlinien oder Vorschriften von örtlichen oder staatlichen Stellen oder anerkannten Organisationen durchgeführt werden. Externe Kontrollen müssen repräsentativ sein für normales Humanserum, da das **AtheNA Multi-Lyte** Kalibrationssystem teilweise auf den Merkmalen der Serumprobe basiert. Wenn die Formulierung der Probe künstlich ist (kein Humanserum), können fehlerhafte Ergebnisse auftreten.
- In den Guten Laborpraktiken wird empfohlen, Positiv- und Negativkontrollen zu verwenden, um die Funktionstüchtigkeit von Reagenzien und eine ordnungsgemäße Durchführung des Testverfahrens zu gewährleisten. Anforderungen an die Qualitätskontrolle sind in Übereinstimmung mit örtlichen, Landes- und/oder Bundesvorschriften oder Zulassungsbestimmungen und den im Labor des Benutzers üblichen Verfahren zur Qualitätskontrolle zu erfüllen. Dem

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

### 1. Berechnungen

- a. Test-Kalibration: Beim ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystem wird die Intra-Well Calibration Technology verwendet. Die *Intra-Well Calibration Technology* beinhaltet eine Mehrpunkt-Standardkurve innerhalb der Bead-Suspension. Mit der *Intra-Well Calibration Technology* wird jede Mulde des Tests ohne Eingreifen des Benutzers intern kalibriert. Die Standardkurve ist so gestaltet, dass sie sich auf der Grundlage der einmaligen Merkmale des Patienten- oder Kontrollerums selbst anpasst. Kalibrierwerte werden den internen Standards von ZEUS zugewiesen, sind chargenspezifisch und innerhalb der chargenspezifischen Kalibrations-CD kodiert.
- b. Cutoff-Werte der Analyten: Jeder Analyt des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems hat einen zugewiesenen Cutoff-Wert. Cutoff-Werte werden von ZEUS für jede Testsystem-Charge bestimmt und innerhalb der chargenspezifischen Kalibrations-CD kodiert.
- c. Durch die *Intra-Well Calibration Technology* werden alle Berechnungen während der Verwendung des **AtheNA Multi-Lyte** Systems automatisch durchgeführt. Die *Intra-Well Calibration Technology* führt eine Regressionsanalyse der internen Standards aus und gleicht dann die berechneten Einheitswerte auf der Grundlage eines zusätzlichen Standards und der Merkmale der Serumprobe an.

### 2. Auswertung

Die Ergebnisse des **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems können wie folgt interpretiert werden:

	<u>Einheitswert</u>
Negative Proben	< 6 IU/mL
Positive Proben	≥ 6 IU/mL
Stark positive Proben	> 25 IU/mL

## GRENZEN DES TESTVERFAHRENS

1. Das ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystem ist eine Diagnosehilfe und nicht selbstständig diagnostisch. Die Testergebnisse sollten in Verbindung mit der klinischen Bewertung und den Ergebnissen anderer Diagnoseverfahren interpretiert werden.
2. Aufgrund der homogenen Natur dieses Tests können hämolysierte, ikterische oder lipemische Proben die Ergebnisse dieses Tests beeinträchtigen. Zusätzliche Proben mit abnormen IgG-Konzentrationen können die Ergebnisse dieses Tests beeinträchtigen. Die Verwendung derartiger Proben sollte vermieden werden.
3. Ein negatives Ergebnis schließt eine rheumatoide Arthritis nicht aus. Etwa 25 % der Patienten mit einer diagnostizierten rheumatoiden Arthritis können ein negatives Ergebnis im RF-Test aufweisen.

## ERWARTETE ERGEBNISSE (REFERENZWERTE)

Aus der Gruppe der normalen Blutspender stammten insgesamt 148 Proben. Von den 148 Proben waren 128/148 (86,5 %) negativ, 18/148 (12,2 %) waren positiv und 2/148 (1,4 %) waren stark positiv. Bei den klinischen Proben (die, bei denen eine rheumatoide Arthritis diagnostiziert wurde), waren 1/150 (0,7 %) negativ, 149/150 (99,3 %) waren positiv. Von den 149 positiven Proben waren 12/149 (8 %) positiv und 137/149 (92 %) waren stark positiv. Das ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystem wurde nach einem Standard der Weltgesundheitsorganisation (WHO) kalibriert. Der Test wurde nach WHO 64/2 kalibriert, dessen definierter Wert bei 25 IU/mL liegt. Bei der Analyse mit Hilfe des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems wurde bei Anwendung dieses Standards ein Ergebnis von 24,5 IU/mL erzielt.

## LEISTUNGSSCHARAKTERISTIKA

### 1. Vergleichsstudie

Zum Nachweis der Gleichwertigkeit des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems verglichen mit auf dem Markt erhältlichen RF IgM ELISA Testsystemen wurde eine interne Vergleichsstudie durchgeführt. Die Leistung wurde bewertet, indem 450 Proben verwendet wurden; 150 normale Spenderseren, 150 Proben, die zuvor für routinemäßige RF-Tests ins Labor geschickt worden waren, und 150 Krankheitsproben von klinisch diagnostizierten Patienten mit rheumatoider Arthritis. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabellen 1 unten zusammengefasst.

**Tabelle 1: Qualitatives ANA Leistungsergebnis des ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus Testsystem**

		ELISA Ergebnisse		
		Positiv	Negativ	Gesamt
AtheNA Ergebnisse	Positiv	308	11	319
	Negativ	0	129	129
	Gesamt	308	140	448*
		95 % Konfidenzintervall		
	Relative Sensitivität	100 %	98,21 – 99,99	
	Relative Spezifität	92,1%	86,38 – 96,01	
	Relative Übereinstimmung	97,5%	95,65 – 98,77	

\*ANMERKUNG: Ursprünglich bestand diese Studie aus 450 Proben. Zwei der Proben brachten ungültige Ergebnisse beim **AtheNA** RF Test und werden daher von der oben angegebenen Zusammenfassung der Daten ausgeschlossen.

#### **Bewertung der klinischen Spezifität des ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus Testsystems:**

Bei der Bewertung der klinischen Spezifität des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems wurden 150 Proben von normalen Blutspendern verwendet, da davon ausgegangen wurde, dass eine solche Gruppe frei von RF IgM-Antikörpern sein sollte. Bei der Verwendung dieser Gruppe waren 128/148 Proben negativ auf RF IgM-Antikörper. Die klinische Spezifität des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems wurde daher als 86,5 % ermittelt. Als 95 %-Konfidenzintervall ausgedrückt, wurde die klinische Spezifität als 0,799 - 0,916 ermittelt.

#### **Bewertung der klinischen Sensitivität des AtheNA Multi-Lyte RF IgM Test Systems:**

Bei der Bewertung der klinischen Sensitivität des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems wurden 150 klinisch bestimmte Serumproben von Patienten verwendet, bei denen eine rheumatoide Arthritis diagnostiziert wurde. Bei der Verwendung dieser Gruppe waren 149/150 Proben positiv auf RF IgM-Antikörper. Die klinische Sensitivität des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystems wurde daher als 99,3 % ermittelt. Als 95 %-Konfidenzintervall ausgedrückt, wurde die klinische Spezifität als 0,963 - 0,999 ermittelt.

### 2. Reproduzierbarkeit

Es wurde eine interne Bewertung sowohl der Intra-Test- als auch der Inter-Test-Reproduzierbarkeit vorgenommen. Es wurden sechs Proben getestet. An jedem Testtag wurde jede Probe zweimal verdünnt und dann für vier Replikate geladen, so dass insgesamt acht Mulden mit jeder der sechs Proben bestückt wurden. Dieses Protokoll wurde drei Tage lang durchgeführt. Dann wurden diese Ergebnisse verwendet, um durchschnittliche IU/mL Werte, Standardabweichungen und % CV zu berechnen. Die Proben wurden so ausgewählt, dass im Ergebnis zwei davon eindeutig negativ und zwei eindeutig positiv waren, und zwei wurden ausgewählt, die schwach positiv waren. Die Ergebnisse der Studie sind in Tabellen 2 und 3 unten zusammengefasst.

**Tabelle 2: ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus Präzisionsdaten**

Proben-ID	Merkmal	Ergebnisse Tag 1		Ergebnisse Tag 2		Ergebnisse Tag 3	
		Verdünnung 1	Verdünnung 2	Verdünnung 1	Verdünnung 2	Verdünnung 1	Verdünnung 2
1	Negativ	1	1	2	1	1	1
		1	1	1	2	1	1
		1	1	2	2	1	1
		1	1	1	1	1	1
2		1	1	4	1	1	1
		1	1	1	2	1	1
		1	1	2	2	1	1
		1	1	1	2	1	1
3	Stark positiv	226	197	193	185	209	219
		200	204	230	214	226	211
		224	226	196	202	217	213
		207	217	192	218	220	203
4		163	166	172	1744	162	158
		163	145	198	160	144	158
		152	162	191	174	165	151
		146	160	167	175	154	157
5	Positiv	9	8	9	9	11	9
		9	8	8	9	10	8
		10	11	9	9	10	10
		9	8	10	10	10	9
6		8	8	10	9	10	9
		10	9	8	7	9	9
		8	8	10	7	11	10
		10	9	9	8	9	8

**Tabelle 3: Zusammenfassung der ZEUS AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus Präzisionstests**

Proben-ID	Berechnung	Inter-Test-Präzision			Inter-Test-Präzision
		Tag 1	Tag 2	Tag 3	
1	Durchschnitt	1	2	1	1
	StD	0	0,534522	0	0,38069
	% CV	0	35,6	0	32,6
2	Durchschnitt	1	2	1	1
	StD	0	0,991031	0	0,69025
	% CV	0	52,9	0	53,4
3	Durchschnitt	213	204	215	210
	StD	12,04678	15,42493	7,225945	12,49630
	% CV	5,7	7,6	3,4	5,9
4	Durchschnitt	157	176	156	163
	StD	8,253787	12,36282	6,53425	13,07164
	% CV	5,3	7,0	4,2	8,0
5	Durchschnitt	9	9	10	9
	StD	1,069045	0,64087	0,916125	0,89685
	% CV	11,9	7,0	9,5	9,7
6	Durchschnitt	9	9	9	9
	StD	0,886405	1,195229	0,916125	1,03472
	% CV	10,1	14,1	9,8	11,7

### 3. Kreuzreaktivität und Störsubstanzen

Das ZEUS **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus** Testsystem wurde auf potentielle Kreuzreaktivität mit anderen Antikörpern und Störungen durch Serumbestandteile geprüft. Für diese Studie wurden insgesamt 38 Proben bewertet. Achtzehn Proben, die positiv für verschiedene Antikörper gegen Autoimmun- und Infektionskrankheiten waren, wurden mit dem ZEUS **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus** Testsystem untersucht. Von den 18 bewerteten Proben waren zwei reaktiv beim ZEUS **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus** Testsystem. Eine der zwei Proben war auch beim ELISA-Verfahren reaktiv auf RF IgM. Insgesamt wurden 20 Proben bewertet, die potentielle Störsubstanzen enthielten. Diese 20 Proben enthielten entweder abnorme Hämolysepegel (n=5), Bilirubinspiegel (n=5), eine IgG-Konzentration über dem Normalwert (n=5) oder Lipidspiegel über dem Normalwert (n=5). Vier der Proben waren schwach positiv bei Verwendung des ZEUS **AtheNA Multi-Lyte RF IgM Plus** Testsystems. Eine der vier Proben war auch beim ELISA-Verfahren positiv auf RF IgM.

### LITERATUR

1. Turgeon, M.L.: Rheumatoid Arthritis. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine, 2<sup>nd</sup> Ed. Shanahan, J., ed. Mosby Year Book Inc., St.Louis, MO, Ch.28,pp:387-398. 1996.

2. Wilske, K., Yocum, D.: Rheumatoid Arthritis: The Status and Future of Combination Therapy. J. of Rheumatol. J. of Rheumatol. Vol 23 (suppl 44):1. 1996.
3. Jackson, G.: Immunodeficiencies and Autoimmune Disorders, In: Clinical Laboratory Medicine, Tilton, R. et. al. Eds. Mosby Year Book Inc., St. Louis, MO, Ch.36,pp:485-504. 1992.
4. Richardson, C., Emery, P. Laboratory Markers of Disease Activity. J. of Rheumatol. Vol 23(suppl 44),pp:23-30. 1996.
5. Zuraw, B., et.al. Immunoglobulin E-Rheumatoid Factor in the Serum of Patients with RA, Asthma, and Other Diseases, J. Clin. Invest., (68),1610. 1981.
6. Wolfe, F. The Natural History of Rheumatoid Arthritis. J. of Rheumatol. Vol.23(suppl 44):13-22. 1996.
7. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
8. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
9. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
10. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4<sup>th</sup> Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



**ZEUS Scientific, Inc.**  
 200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA  
 Gebührenfrei (USA): 1-800-286-2111, Option 2  
 International: +1 908-526-3744  
 Fax: +1 908-526-2058  
 Website: [www.zeusscientific.com](http://www.zeusscientific.com)

**AtheNA Multi-Lyte** und **SAVE Diluent®** sind Marken von ZEUS Scientific, Inc.

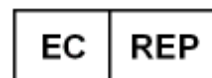
ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** RF IgM Plus Testsystem

Für Kundenservice in den USA wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Vertriebspartner.

Für technischen Support in den USA wenden Sie sich bitte telefonisch an ZEUS Scientific oder senden eine E-Mail an [ansupport@zeusscientific.com](mailto:ansupport@zeusscientific.com).

Für Kundenservice und technischen Support außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Vertriebspartner.

© 2021 ZEUS Scientific, Inc. Alle Rechte vorbehalten.



**EMERGO EUROPE**  
 Prinsessegracht 20  
 2514 AP The Hague  
 The Netherlands