



CS

dsDNA (Crithidia I.)

REF FA1001

IVD

Rx Only



URČENÉ POUŽITÍ

Souprava dsDNA (Crithidia I.) je nepřímý imunofluorescenční test využívající Crithidia luciliae pro kvalitativní a semikvantitativní stanovení protilátek IgG proti dvouvláknové DNA (dsDNA) v lidském séru pomocí manuální fluorescenční mikroskopie nebo automatizovaného mikroskopu dIFine®. Přítomnost protilátek dsDNA ve spojení s dalšími sérologickými a klinickými nálezy může napomoci v diagnostice systémového lupus erythematoses (SLE).

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Protilátky proti dsDNA se často nacházejí v sérech pacientů s aktivním spontánním systémovým lupus erythematoses (SLE) a léky vyvolaným lupusem (1-9). Přítomnost protilátek proti dsDNA svědčí o aktivním SLE a úzce koreluje s nástupem lupusové nefritidy (5, 10-13). Specifičnost protilátek proti dsDNA pro SLE je mnohem vyšší než u antinukleárních protilátek (5, 12). Detekce protilátek proti dsDNA proto poskytuje cenné diagnostické i prognostické informace pro diferenciální diagnostiku SLE (5, 10-13). Protilátky proti DNA byly objeveny v sérech pacientů se SLE před několika desítkami let (1-4). Od té doby byly DNA protilátky studovány řadou technik, včetně gelové difúze (1, 14-15), fixace komplementu (2, 14 a 16), aglutinace (17, 18), DNA spot testů (13, 19), radioimunoelktroforézy (20), kontraimunoelktroforézy (21, 22), precipitace síranem amonným (10, 23 a 24) a ELISA (38). Bylo vynaloženo značné úsilí na stanovení specifity DNA protilátek. Nyní je zřejmé, že byly nalezeny protilátky, které reagují buď s dsDNA, nebo s denaturovanou jednovláknovou DNA (sDNA), nebo s oběma (8, 12, 14 a 20). Předpokládá se, že dsDNA protilátky korelují s klinickou aktivitou onemocnění (2, 5, 10, 25, 39, 40). Kromě toho byly z ledvin pacientů se SLE eluovány protilátky proti dsDNA a jedna studie prokázala přítomnost komplexů DNA-anti-dsDNA v sérech pacientů s aktivním SLE (26). Tyto protilátky však byly nalezeny u pacientů s aktivní lupusovou nefaritidou i bez ní (27, 28). Nepřímá fluorescenční analýza (IFA) dsDNA (Crithidia I.) je založena na použití kinetoplastového substrátu Crithidia I., který poprvé popsali Aarden a kol. (29). Tato metoda je užitečným laboratorním testem k detekci protilátek proti dsDNA u pacientů se systémovým lupus erythematoses (30-33).

PRINCIP TESTU

Souprava dsDNA (Crithidia I.) je nepřímý fluorescenční test protilátek (IFA) pro kvalitativní a semikvantitativní stanovení IgG protilátek proti dsDNA v lidských sérech. Reakce probíhá ve dvou krocích:

1. Krok jedna; Pokud jsou přítomny protilátky proti dsDNA, probíhá v prvním kroku reakce mezi protilátkami proti dsDNA a kinetoplastem substrátu Crithidia I.
2. Krok dva; k substrátu se přidá konjugát kozí protilátky proti lidskému IgG značený fluorescein isothiokyanátem (FITC). Pokud séra pacienta obsahují protilátku IgG proti dsDNA, bude při zkoumání preparátů fluorescenčním mikroskopem pozorována pozitivní jablkově zelená fluorescenční reakce antigen-protilátka. Pozitivní reakce je rozpoznána jako intenzivní barvicí reakce v malých kinetoplastech organismu Crithidia I.

REAGENTY

Poskytnuté materiály:

Každý testovací systém obsahuje následující složky v dostatečném množství k provedení počtu testů uvedeného na štítku obalu.

POZNÁMKA: Konjugát a kontroly obsahují kombinaci proclinu (0,05 % obj./obj.) a azidu sodného (<0,1 % hm./obj.) jako konzervantů.

SLD	Substrátové sklíčka Crithidia I.: Deset sklíček s 10 jamkami a sacím papírem.
CONJ	Konjugát: Kozí anti-lidský IgG značený FITC. Obsahuje fosfátový pufr s BSA a kontrastní barvivo. Dvě 3,5ml lahvičky s jantarovým uzávěrem. Připraveno k použití.
CTRL +	Pozitivní kontrola (lidské sérum): Vyvolá pozitivní jablkově zelené zbarvení kinetoplastů u organismů Crithidia I. Jeden, 0,5 ml, červený- uzavíratelná lahvička. Připraveno k použití.
CTRL -	Negativní kontrola (lidské sérum): Nebude produkovat detekovatelné barvení dsDNA. Jeden, 0,5 ml, zelený-uzávěr, lahvička. Připraveno k použití

BUF	PBS	Fosfátem pufovaný fyziologický roztok (PBS): pH 7,2 ± 0,2. Obsah každého sáčku s puforem vysype do jednoho litru destilované nebo deionizované vody. Míchejte, dokud se všechny soli důkladně nerozpustí. Dva sáčky postačují k přípravě 2 litrů.
MNTMED		Montážní médium (pufovaný glycerol): Jedna 3,0ml lahvička s bílým uzávěrem a kapacím uzávěrem
COVGLS		Krycí sklo. Balení dvanácti kusů, 24 x 60 mm, tloušťka č. 1.

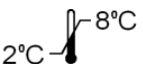
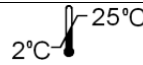
POZNÁMKY:

Následující komponenty nezávisí na čísle šarže soupravy a lze je používat zaměnitelně s produkty Sebia IFA, pokud jsou čísla produktů shodná: Montážní médium (produkt č.: FA0009S), Negativní kontrola (FA2005-IUNC), Krycí sklíčko (produkt S8007) a PBS (produkt č.: 0008S).

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

- Automatický mikroskop dIFine® nebo řádně vybavený fluorescenční mikroskop s FITC filtrem (450–490 nm).
- Pipetor(y) schopný(é) pipetovat objemy mezi 10 a 200 µl.
- Jednorázové pipetovací špičky.
- Malé zkušavky, ředící destičky nebo podobné prostředky pro přípravu ředěných vzorků.
- Promývačka sklíček nebo velká barvicí miska s magnetickou míchací destičkou pro promývání sklíček mezi jednotlivými inkubačními kroky.
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Odměrný válec o objemu 1 litr.
- Laboratorní časovač pro sledování inkubačních kroků.
- Odpadní nádoba, jednorázové rukavice a dezinfekční prostředek (např.: 10% bělidlo pro domácnost – 0,5% chlornan sodný).

SKLADOVACÍ PODMÍNKY

	Neotevřená sada.
	Montážní média, konjugát, sklíčka, pozitivní a negativní kontroly.
	Rehydratovaný PBS (stabilní po dobu 30 dnů).
	Sáčky s fosfátem pufovaným fyziologickým roztokem (PBS).

OPATŘENÍ

- Pro diagnostické použití in vitro.
- Dodržujte běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními činidly. V případě zasažení očí je okamžitě vypláchněte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodný ochranný oděv, rukavice a ochranu očí/obličeje. Nevdechujte výpary. Odpad zlikvidujte v souladu se všemi místními, státními a federálními zákony.
- Jamky na podložním sklíčku neobsahují životaschopné organismy. Považujte však podložní sklíčko za **potenciálně biologicky nebezpečný materiál** a zacházejte s ním podle toho.
- Kontrolní materiály jsou **potenciálně biologicky nebezpečné materiály**. Výchozí materiály, ze kterých byly tyto produkty získány, byly schválenými testovacími metodami shledány negativními na antigen HIV-1, HBsAg a protilátky proti HCV a HIV. Vzhledem k tomu, že žádná testovací metoda nemůže poskytnout úplnou záruku nepřítomnosti infekčních agens, mělo by se s těmito produkty zacházet na úrovni biologické bezpečnosti 2, jak je doporučeno pro jakékoli potenciálně infekční lidské sérum nebo vzorek krve v manuálu Centra pro kontrolu nemocí/Národních institutů zdraví „Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích“: aktuální vydání; a ve standardu OSHA pro patogeny přenášené krví (20).
- Dodržení stanovené doby a teploty inkubace je nezbytné pro dosažení přesných výsledků. **Všechny reagenty musí před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (20–25 °C)**. Nepoužité reagenty ihned vraťte do původních obalů a dodržujte skladovací požadavky.
- Nesprávné promytí může vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům. Před přidáním konjugátu minimalizujte množství zbytkového PBS blotováním. Mezi inkubacemi nenechte jamky vyschnout.
- Konjugát a kontroly obsahují azid sodný v koncentraci <0,1 % (hm./obj.). Bylo hlášeno, že azid sodný v laboratorním potrubí vytváří azidy olova nebo mědi, které mohou při úderech kladivem způsobit explozi. Abyste tomu zabránili, po likvidaci roztoku obsahujícího azid sodný důkladně opláchněte dřež vodou. Tento konzervační prostředek může být požití toxický.
- Ředění nebo znehodnocení těchto činidel může vést k chybným výsledkům.
- Nikdy nepipetujte ústy. Zabraňte kontaktu činidel a vzorků pacientů s kůží a sliznicemi.
- Zabraňte mikrobiální kontaminaci činidel. Mohlo by dojít k nesprávným výsledkům.
- Křížová kontaminace činidel a/nebo vzorků by mohla způsobit chybné výsledky.
- Opakovaně použitelné sklo musí být důkladně umyté a opláchnuté bez použití čisticích prostředků.
- Zabraňte potřísnění nebo tvorbě aerosolů.

14. Během skladování nebo inkubace nevystavujte činidla silnému světlu.
15. Necháň sáčku se sklíčky před otevřením ochranného obalu vychladnout na pokojovou teplotu ochrání jamky a sací papír před kondenzací.
16. Promývací roztok shromažďujte v odpadní nádrži. Odpadní roztok ošetřete dezinfekčním prostředkem (např. 10% bělidlo pro domácnost – 0,5% chlornan sodný). Zabraňte vystavení činidel výparům bělidla.
17. Nevystavujte žádné z reaktivních činidel roztokům obsahujícím bělidlo ani silným pachům z roztoků obsahujících bělidlo. Stopové množství bělidla (chlornanu sodného) může zničit biologickou aktivitu mnoha reaktivních činidel v tomto testovacím systému.
18. Netlačte na obálku sklíčka. Mohlo by dojít k poškození substrátu.
19. Komponenty tohoto testovacího systému jsou vzájemně sladěny pro optimální citlivost a reprodukovatelnost. Reagencie od jiných výrobců by neměly být zaměňovány. Pečlivě si přečtěte příbalový leták.
20. Neotevřené/otevřené složky jsou stabilní do data expirace vytištěného na štítku, za předpokladu, že jsou striktně dodržovány doporučené skladovací podmínky. Nepoužívejte po uplynutí doby expirace. Nezmrazujte.
21. Kontrastní barvivo Evans Blue je potenciální karcinogen. V případě zasažení kůže opláchněte vodou. Zlikvidujte v souladu s místními předpisy.
22. Během postupu nenechávejte sklíčka zaschnout. V závislosti na laboratorních podmínkách může být nutné umístit sklíčka během inkubace do vlhké komory.

SBÍRKA VZORKŮ

1. Odběr vzorků provádějte v souladu s dokumentem CLSI M29: Ochrana laboratorních pracovníků před infekčními nemocemi z povolání. Žádná známá testovací metoda nemůže poskytnout úplnou záruku, že vzorky lidské krve nebudou přenášet infekci. Proto by všechny krevní deriváty měly být považovány za potenciálně infekční.
2. Pro tento test používejte pouze čerstvě odebraná a řádně chlazená séra získaná schválenými aseptickými postupy venepunkce (34, 35). Neměly by se přidávat žádné antikoagulanty ani konzervační látky. Nepoužívejte hemolyzovaná, lipemická nebo bakteriálně kontaminovaná séra.
3. Vzorek skladujte při pokojové teplotě maximálně 8 hodin. Pokud se testování neprovede do 8 hodin, séra lze skladovat při teplotě 2–8 °C maximálně 48 hodin. Pokud se očekává zpoždění testování, skladujte testovaná séra při teplotě –20 °C nebo nižší. Vyhněte se opakovaným cyklům zmrazování/rozmrazování, které mohou způsobit ztrátu aktivity protilátek a chybné výsledky. Je odpovědností každé laboratoře použít všechny dostupné reference a/nebo vlastní studie k určení kritérií stability pro svou laboratoř (37).

POSTUP TESTU

1. Vyjměte sklíčka a další součásti soupravy z chladničky a nechte je ohřát na pokojovou teplotu (20–25 °C). Roztrhněte ochranný obal a vyjměte sklíčka. **Netlačte na ploché strany ochranného obalu.**
2. Každou jamku označte příslušnými séry a kontrolami pacienta. **POZNÁMKA: Kontroly jsou určeny k použití neřaděné.** Připravte ředění 1:10 (např.: 10 µl séra + 90 µl PBS pufru) každého séra pacienta.
Semikvantitativní možnosti:
 - a. Uživatelé mohou titrovat pozitivní kontrolu do koncového bodu, aby sloužila jako semikvantitativní kontrola (1+ minimálně reaktivní). V takových případech by měla být kontrola dvojnásobně zředěna v PBS. Koncové ředění je stanoveno a vytištěno na lahvičce s pozitivní kontrolou (± jedno ředění). Je třeba poznamenat, že vzhledem k rozdílům v rámci laboratoře (vybavení atd.) by si každá laboratoř měla stanovit svůj vlastní očekávaný koncový titr pro každou šarži pozitivní kontroly.
 - b. Při titraci vzorků pacientů by měly být počáteční roztoky 1:10 ředěny v PBS, a všechna následná ředění by měla být také připravena v PBS.
3. Pomocí vhodného dávkovače dávkujte 30 µl každého kontrolního vzorku a každého zředěného séra pacienta do příslušných jamek.
4. Inkubujte sklíčka při pokojové teplotě (20–25 °C) po dobu 35 ± 5 minut.
5. Sklíčka jemně opláchněte PBS. Pokud je myjete ručně, **nestříkejte proud PBS do testovacích jamek.**
6. Sklíčka promývejte dvakrát v pětiminutových intervalech a mezi promýváními vyměňujte PBS.
7. Vyjměte sklíčka z PBS jedno po druhém. Obrátte sklíčko dnem vzhůru a zajistěte jamky otvory v dodaných savých ubrouscích. Sklíčko osušte otřením zadní strany savým ubrouskem. **POZOR:** Umístěte savý ubrousek a sklíčko na tvrdý, rovný povrch. Otření na papírových utěrkách může zničit matici sklíčka. **Během testu nenechte sklíčka zaschnout.**
8. Do každé jamky přidejte 20–40 µl konjugátu.
9. Opakujte kroky 4 až 7.
10. Na každé podložní sklíčko mezi jamkami naneste 3–5 kapek montovacího média a přiložte krycí sklíčko. Alternativně můžete do každé jamky nanést malé množství montovacího média a přiložit krycí sklíčko. Sklíčka ihned prozkoumejte vhodným fluorescenčním mikroskopem.

POZNÁMKA: Pokud se očekává zpoždění při zkoumání preparátů, zalepte krycí sklíčko bezbarvým lakem na nehty a uložte do chladničky. Doporučuje se, aby preparáty byly vyšetřeny ve stejný den jako testování.

KONTROLA KVALITY

1. Při každém provedení testu musí být zahrnuta pozitivní a negativní kontrola.
2. Před vyhodnocením výsledků testu se doporučuje přechíst si pozitivní a negativní kontrolní složky. To pomůže při stanovení referenčních hodnot potřebných k interpretaci testovaného vzorku. Pokud kontrolní složky neodpovídají popisu, výsledky jsou neplatné.
- a. Negativní kontrola – charakterizovaná absencí fluorescenčního barvení kinetoplastu. Barvení pouze jádra a/nebo barvení bazálního tělíska by mělo být interpretováno jako negativní test.
- b. Pozitivní kontrola – charakterizována jakýmkoli jablkově zeleným fluorescenčním zbarvením kinetoplastu. Barvení bazálního tělíska **ve spojení s** kinetoplastem by mělo být považováno za pozitivní výsledek.
3. Další kontroly mohou být testovány podle pokynů nebo požadavků místních, státních a/nebo federálních předpisů nebo akreditačních organizací.

POZNÁMKY:

- a. **Intenzita pozorované fluorescence se může lišit v závislosti na použitém mikroskopu a filtračním systému.**
- b. **Kinetoplast se obvykle nachází blíže k bazálnímu tělísku než k jádru; vzhledem k tekuté povaze endoplazmy se však umístění kinetoplastu může lišit buňka od buňky (36).**
- c. **V každém poli čtete pouze jednotlivé, dobře definované organismy. Ne všechny organismy se budou jevit optimálně; morfologie se může u jednotlivých organismů lišit v důsledku fixace, fázi jejich růstu a/nebo jejich orientace na sklíčku při sušení (36).**

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

1. Titry menší než 1:10 jsou považovány za negativní.
2. Pozitivní test: Jakékoli pozorované jablkově zelené zbarvení malého kinetoplastu substrátového organismu Crithidia I. při ředění 1:10 na základě stupnice 1+ až 4+. 1+ je považováno za slabou reakci a 4+ za silnou reakci.
3. Pro semikvantitativní výsledky by měla být všechna séra pozitivní v poměru 1:10 titrována do koncového bodu ředění. Toho se dosahuje sériovým ředěním všech pozitivních vzorků pacientů v poměru 1:10, 1:20, 1:40 atd. Koncovým bodem je nejvyšší ředění, které vyvolá pozitivní reakci.
4. Současné barvení malého kinetoplastu a sousedního většího jádra Crithidia I. by mělo být interpretováno jako pozitivní test.
5. Polární barvení na bázi bičků není významné.
6. Barvení pouze jádra by nemělo být interpretováno jako pozitivní test.

OMEZENÍ TESTU

1. Souprava dsDNA (Crithidia I.) je diagnostická pomůcka. Proto je nezbytné, aby výsledky testu protilátek dsDNA interpretoval lékař s ohledem na klinický stav pacienta.
2. Pacienti se SLE podstupující steroidní terapii mohou mít negativní výsledky testů (5, 8 a 9).
3. Některé léky, zejména hydralazin, mohou indukovat produkci protilátek proti dsDNA (5, 6 a 8).

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Očekávané hodnoty u normální populace jsou negativní při počátečním ředění 1:10. Některé léky však mohou vyvolat pozitivní test na protilátky proti dsDNA (5, 6).

VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY

POZNÁMKA: Při stanovení výkonnostních charakteristik dsDNA (Crithidia I.) byly preparáty interpretovány třemi různými metodami, jak je uvedeno níže:

Metoda interpretace:
Metoda A. Metoda A byla kompletně manuální interpretační metodou. Byla provedena za použití tradičního fluorescenčního mikroskopu vybaveného objektivem a okuláry. Stanovení kvalitativního výsledku bylo provedeno pomocí vyškolených laboratorních techniků.
Metoda B. Metoda B byla provedena skenováním sklíček pomocí programu dIFine® a následnou interpretací kvalitativních výsledků vyškoleným laboratorním technikem pomocí digitálního obrazu zobrazeného na monitoru počítače.
Metoda C. Metoda C je navrhovaný výsledek predikovaný programem dIFine®; metoda C predikuje kvalitativní výsledek. Pokud je metoda C „UNC“ (nejistá), úroveň fluorescence naměřená programem dIFine je na hranici mezi pozitivní a negativní, nebo se v jamce sklíčka vyskytují jiné znaky, které brání definitivnímu doporučení. Metoda C musí být „validována“ nebo přijata laboratorním technikem, případně upravena či zcela zneplatněna. Pro účely této studie a níže uvedených dat je, Metoda C zaznamenána „TAK, JAK JE“ bez jakýchkoli úprav laboratorním technikem (techniky). Proto je prezentována pouze pro informační účely.

1. Analytické výkonnostní studie:

a. Linearita:

Byly identifikovány dva vzorky séra se slabou pozitivní hodnotou (koncový bod ~1:10–1:20), dva vzorky séra se střední pozitivní hodnotou (koncový bod ~1:40–1:80) a dva vzorky séra se silnou pozitivní hodnotou (koncový bod > 1:320). Šest vzorků bylo analyzováno při screeningovém ředění 1:10 a také při sériových ředěních v rozmezí od 1:20 do 1:5120 a poté interpretováno všemi třemi výše uvedenými metodami. Tato studie byla provedena interně u výrobce. Koncové body pro každý vzorek a každou metodu jsou uvedeny níže:

Ochutnat	Metoda A	Metoda B	Metoda C
Nízký pozitivní-1	1:10	1:20	1:20
Nízký pozitivní-2	1:20	1:40	1:40*
Střední pozitivní-1	1:40	1:80	1:80
Střední pozitivní-2	1:40	1:80	1:80
Vysoce pozitivní-1	1:640	1:640	1:640
Vysoce pozitivní-2	1:640	1:640	1:640

* 1 výsledek UNC při ředění 1:80 pro vzorek Low Positive-2 počítán jako negativní

Ochutnat	Metoda A	Metoda B	Metoda C
Nízký pozitivní-1	1:10	1:20	1:20
Nízký pozitivní-2	1:20	1:40	1:80**
Střední pozitivní-1	1:40	1:80	1:80
Střední pozitivní-2	1:40	1:80	1:80
Vysoce pozitivní-1	1:640	1:640	1:640
Vysoce pozitivní-2	1:640	1:640	1:640

** 1 výsledek UNC při ředění 1:80 pro vzorek Low Positive-2 počítán jako pozitivní

U metod A a B byla intenzita fluorescence zaznamenána při každém ředění s použitím stupnice od 4, která označuje velmi intenzivní, do 0, která označuje žádnou fluorescence. Ředění vzorků a související intenzity fluorescence jsou shrnuty v níže uvedených tabulkách:

		Fluorescenční intenzita (4+ až 0) – Metoda A									
ID vzorku	Popis	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
1	Nízká pozitivita	1	0	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
2	Nízká pozitivita	2	1	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
3	Střední pozitivita	2	1	1	0	0	0	0	NT	NT	NT
4	Střední pozitivita	2	2	1	0	0	0	0	0	NT	NT
5	Vysoká pozitivita	4	3	3	2	1	1	1	0	0	0
6	Vysoká pozitivita	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
		NT = Netestováno									

		Fluorescenční intenzita (4+ až 0) – Metoda B									
ID vzorku	Popis	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
1	Nízká pozitivita	1	1	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
2	Nízká pozitivita	2	1	1	0	0	0	NT	NT	NT	NT
3	Střední pozitivita	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
4	Střední pozitivita	4	3	2	1	0	0	0	0	0	0
5	Vysoká pozitivita	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
6	Vysoká pozitivita	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
		NT = Netestováno									

b. Reprodukovatelnost mezi šaržemi:

Bylo identifikováno devět negativních vzorků séra, dva vzorky séra se slabou pozitivní hodnotou (koncový bod ~1:10–1:20), dva vzorky séra se střední pozitivní hodnotou (koncový bod ~1:40–1:80) a dva vzorky séra se silnou pozitivní hodnotou (koncový bod > 1:320). Tato skupina 15 vzorků byla analyzována při screeningovém ředění 1:10. U 6 pozitivních vzorků byla analyzována a interpretována další sériová ředění v rozmezí od 1:20 do 1:5120 všemi třemi výše uvedenými metodami za účelem stanovení titru v koncovém bodě.

Výsledky:

i. **Kvalitativní dohoda:** U kvalitativních výsledků při screeningovém ředění všech 15 vzorků napříč všemi 3 šaržemi souprav byla pro interpretační metoda A a B dosažena 100% shoda. U šarže 3 byl 1 výsledek UNC získán interpretační metodou C při screeningovém ředění 1:10 pro 1 ze slabě pozitivních vzorků.

ii. **Dohoda o titru v koncových bodech:** Všechny 6 pozitivních vzorků mělo stejné titry v koncovém bodě ± jedno ředění bez ohledu na šarži reagenční soupravy nebo interpretaci metoda.

c. Studie referenčního rozsahu:

Sto osmdesát náhodných vzorků séra bylo získáno od zdravých dárců v severovýchodní části USA. Vzorky byly analyzovány při screeningovém ředění 1:10 a interpretovány všemi třemi metodami. Výsledky screeningového testu jsou shrnuty níže:

Interpretační metoda	Počet pozitivních výsledků	% pozitivních výsledků	Počet negativních výrazů	% negativních kritérií	Počet nejistých	% Nejistý
A	2	1.11 %	178	98.89 %	Není k dispozici	Není k dispozici
B.	2	1.11 %	178	98.89 %	Není k dispozici	Není k dispozici
C	1	0.56 %	176	97.78 %	3	1.67 %

d. Dvacetidenní studie opakovatelnosti:

Byly identifikovány dva negativní vzorky séra, dva slabě pozitivní vzorky séra (koncový bod ~1:10-1:20), dva středně pozitivní vzorky séra (koncový bod ~1:40-1:80) a dva silně pozitivní vzorky séra (koncový bod > 1:320). Těchto osm vzorků bylo analyzováno při screeningovém ředění 1:10 v triplikátech, po dvacet různých dnů. Kvalitativní výsledky interpretovali dva technici pro metoda A a B a jeden přístroj diFine pro metodu C. Identity vzorků byly zaslepené a randomizovány nezávisle před každým dnem testování.

Hodnoty shody kvalitativních výsledků pro hodnocení opakovatelnosti v rámci metoda jsou uvedeny v níže uvedených tabulkách a shrnuty následovně: U všech osmi vzorků interpretovaných metodami A a B byla u obou techniků zjištěna 100% shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda. U metoda C vykazovaly středně pozitivní vzorek 1, vysoce pozitivní vzorek 2 a oba negativní vzorky 100% shodu kvalitativních výsledků v rámci metoda. Nízko pozitivní vzorek 1, nízko pozitivní vzorek 2, středně pozitivní vzorek 2 a vysoce pozitivní vzorek 1 vykazovaly shodu kvalitativních výsledků v rámci metoda 96,7 %, 98,3 %, 98,3 % a 95,0 %. Vzorky, které vykazovaly shodu v rámci metoda menší než 100 %, byly všechny výsledky pro interpretace metodou C označeny jako „UNC“ (nejisté).

Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 1)

Ochutnat	Shoda Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Nízký pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Vysoce pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Vysoce pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)

Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 2)

Ochutnat	Shoda Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Nízký pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Vysoce pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Vysoce pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (n = 2 Technici Dohromady)

Ochutnat	Titř koncového bodu	Shoda Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Negativní-1	Není k dispozici	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Negativní-2	Není k dispozici	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Nízký pozitivní-1	1:10 - 1:20	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Nízký pozitivní-2	1:20 - 1:40	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Střední pozitivní-1	1:40 - 1:80	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Střední pozitivní-2	1:40 - 1:80	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Vysoce pozitivní-1	1:320 - 1:640	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Vysoce pozitivní-2	1:160 - 1:320	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)

Ochutnat	Shoda Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	96.7 % (88.6 - 99.1 %)
Nízký pozitivní-2	98.3 % (91.1 - 99.7 %)
Střední pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-2	98.3 % (91.1 - 99.7 %)
Vysoce pozitivní-1	95.0 % (86.3 - 98.3 %)
Vysoce pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-1	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-2	100 % (88.7 - 100 %)

Hodnoty shody kvalitativních výsledků pro hodnocení opakovatelnosti mezi metodami jsou uvedeny v níže uvedených tabulkách a shrnuty následovně: U všech osmi vzorků interpretovaných metodou A oproti metodě B byla u obou techniků zjištěna 100% shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda. Při porovnání metoda A a metoda B s metodou C vykazovaly středně pozitivní vzorek 1, vysoce pozitivní vzorek 2 a oba negativní vzorky 100% shodu kvalitativních výsledků mezi metodami. Nízko pozitivní vzorek 1, nízko pozitivní vzorek 2, středně pozitivní vzorek 2 a vysoce pozitivní vzorek 1 vykazovaly hodnoty shody kvalitativních výsledků mezi metodami 96,7 %, 98,3 %, 98,3 % a 95,0 %. Vzorky, které vykazovaly shodu mezi metodami menší než 100 %, byly všechny výsledky pro interpretace metodou C označeny jako „UNC“ (nejistě).

Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 1)

Ochutnat	Shoda Metoda A Vs. Metoda B (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda A Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda B Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	96.7 % (88.6 - 99.1 %)	96.7 % (88.6 - 99.1 %)
Nízký pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)
Střední pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)
Vysoce pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	95.0 % (86.3 - 98.3 %)	95.0 % (86.3 - 98.3 %)
Vysoce pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)

Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 2)

Ochutnat	Shoda Metoda A Vs. Metoda B (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda A Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)	Shoda Metoda B Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	96.7 % (88.6 - 99.1 %)	96.7 % (88.6 - 99.1 %)
Nízký pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)
Střední pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Střední pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)	98.3 % (91.1 - 99.7 %)
Vysoce pozitivní-1	100 % (88.7 - 100 %)	95.0 % (86.3 - 98.3 %)	95.0 % (86.3 - 98.3 %)
Vysoce pozitivní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-1	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)
Negativní-2	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)	100 % (88.7 - 100 %)

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (n = 2 Technici Dohromady)

Ochutnat	Titř koncového bodu	Shoda metoda A vs. metoda B (95% interval spolehlivosti)	Shoda metoda A vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)	Shoda metoda B vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)
Negativní-1	Není k dispozici	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Negativní-2	Není k dispozici	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Nízký pozitivní-1	1:10 - 1:20	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	116/120 = 96.7 % (91.7 - 98.7 %)	116/120 = 96.7 % (91.7 - 98.7 %)
Nízký pozitivní-2	1:20 - 1:40	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	118/120 = 98.3 % (94.1 - 99.5 %)	118/120 = 98.3 % (94.1 - 99.5 %)
Střední pozitivní-1	1:40 - 1:80	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)
Střední pozitivní-2	1:40 - 1:80	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	118/120 = 98.3 % (94.1 - 99.5 %)	118/120 = 98.3 % (94.1 - 99.5 %)
Vysoce pozitivní-1	1:320 - 1:640	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	114/120 = 95 % (89.5 - 97.7 %)	114/120 = 95 % (89.5 - 97.7 %)
Vysoce pozitivní-2	1:160 - 1:320	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)	120/120 = 100 % (96.9 - 100 %)

e. Pětidenní studie reprodukovatelnosti na více místech:

Byly identifikovány dva negativní vzorky séra, dva slabě pozitivní vzorky séra (koncový bod ~1:10-1:20), dva středně pozitivní vzorky séra (koncový bod ~1:40-1:80) a dva silně pozitivní vzorky séra (koncový bod > 1:320). Těchto osm vzorků bylo analyzováno při screeningovém ředění 1:10 v triplikátech, dvakrát denně, pět různých dnů, ve třech různých laboratořích. Kvalitativní výsledky interpretovali dva technici v každé laboratoři pro metoda A a B a jeden přístroj dIFine v každé laboratoři pro metodu C. Identity vzorků byly zaslepeny a nezávisle randomizovány před každým dnem testování.

Výsledky kvalitativní shody jsou uvedeny níže:

i. Dohoda o kvalitativních výsledcích

a. V rámci metoda

Site 1 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 1)

Ochutnat	Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)

Site 1 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 2)

Ochutnat	Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)

Site 1 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda

Ochutnat	Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)
Nízký pozitivní-2	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)
Negativní-1	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Negativní-2	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)

Site 2 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 1)

Ochutnat	Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)

Site 2 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 2)

Ochutnat	Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Site 2 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda

Ochutnat	Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Nízký pozitivní-2	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Site 3 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 1)

Ochutnat	Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Site 3 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda (Technik 2)

Ochutnat	Metoda A (95% interval spolehlivosti)	Metoda B (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Negativní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)

Site 3 – Dohoda o kvalitativních výsledcích v rámci metoda

Ochutnat	Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	27/30 - 90.00 % (74.38 - 96.54 %)
Nízký pozitivní-2	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	27/30 - 90.00 % (74.38 - 96.54 %)
Vysoce pozitivní-1	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Negativní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)

b. Mezi metodami:
Site 1 – Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 1)

Ochutnat	Metoda A vs. metoda B (95% interval spolehlivosti)	Metoda A vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)	Metoda B vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Střední pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)	28/30 - 93.33 % (78.68 - 98.15 %)
Negativní-1	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)
Negativní-2	30/30 - 100 % (88.65 - 100.00 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)	29/30 - 96.67 % (83.33 - 99.41 %)

Site 1 – Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 2)

Ochutnat	Metoda A vs. metoda B (95% interval spolehlivosti)	Metoda A vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)	Metoda B vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)

Site 2 – Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 1)

Ochutnat	Metoda A vs. metoda B (95% interval spolehlivosti)	Metoda A vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)	Metoda B vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Site 2 – Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 2)

Ochutnat	Metoda A vs. metoda B (95% interval spolehlivosti)	Metoda A vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)	Metoda B vs. metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)	28/30 – 93.33 % (78.68 – 98.15 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Site 3 – Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 1)

Ochutnat	Metoda A Vs. Metoda B (95% interval spolehlivosti)	Metoda A Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)	Metoda B Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)	26/30 – 86.67 % (70.32 – 94.69 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Site 3 – Dohoda o kvalitativních výsledcích mezi metodami (Technik 2)

Ochutnat	Metoda A Vs. Metoda B (95% interval spolehlivosti)	Metoda A Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)	Metoda B Vs. Metoda C (95% interval spolehlivosti)
Nízký pozitivní-1	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)	26/30 – 86.67 % (70.32 – 94.69 %)
Nízký pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Střední pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Střední pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)	27/30 – 90.00 % (74.38 – 96.54 %)
Vysoce pozitivní-1	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Vysoce pozitivní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)
Negativní-1	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	29/30 – 96.67 % (83.33 – 99.41 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)	30/30 – 100 % (88.65 – 100.00 %)

Pokud se zkombinuje všech osm vzorků a získá se 240 výsledků, lze kvalitativní výsledky shrnout také následovně:

Reprodukovatelnost metoda A na více místech:

Kvalitativní výsledky ze tří pracovišť a dvou techniků na Site, porovnávající Site s Sitem technika s technikem.

			Site 1		Site 2		Site 3			
			Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2		
			Metoda A		Metoda A		Metoda A			
Site 1	Technik 1	Metoda A		240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)		
	Technik 2			240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)			
Site 2	Technik 1	Metoda A			240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)				
	Technik 2				240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)				
Site 3	Technik 1	Metoda A			Metoda A					240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)
	Technik 2									

Reprodukovatelnost metoda B na více místech:

Kvalitativní výsledky ze tří pracovišť a dvou techniků na Site, porovnávající Site s Sitem a technika s technikem.

			Site 1		Site 2		Site 3					
			Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2				
			Metoda B		Metoda B		Metoda B					
Site 1	Technik 1	Metoda B		240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)				
	Technik 2				240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)				
Site 2	Technik 1	Metoda B				240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)				
	Technik 2						238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)	238/240 - 99.17 % (97.01 - 99.77)				
Site 3	Technik 1	Metoda B						240/240 - 100 % (98.42 - 100.00)				
	Technik 2											

Metoda C Reprodukovatelnost na více místech Porovnání jednotlivých site

		Site 1	Site 2	Site 3
		Metoda C		
Site 1	Metoda C		227/240 - 94.58 % (90.95 - 96.81)	230/240 - 95.83 % (92.50 - 97.72)
Site 2				231/240 - 96.25 % (93.03 - 98.01)
Site 3				

f. Studie Interference:

Byly identifikovány dva negativní vzorky séra, dva slabě pozitivní vzorky séra (koncový bod ~1:10–1:20), dva středně pozitivní vzorky séra (koncový bod ~1:40–1:80) a dva silně pozitivní vzorky séra (koncový bod > 1:320). Těchto 8 vzorků bylo obohaceno dvěma různými koncentracemi (nízká a vysoká koncentrace) devatenácti různých interferenčních látek, jak je uvedeno v tabulce níže. Všechny vzorky byly analyzovány ve třech opakováních pomocí soupravy dsDNA (Crithidia I.) a interpretovány všemi třemi výše uvedenými metodami. Kvalitativní výsledky byly interpretovány dvěma technikami pro metodu A a B a jedním přístrojem dIFine pro metodu C.

Endogenní Látky		
Látka	Nízká Koncentrace	Vysoká Koncentrace
Bilirubin (nekonjugovaný)	0.02 mg/ml	0.15 mg/ml
Cholesterol (celkový)	1.5 mg/ml	2.2 mg/ml
Triglyceridy (celkem)	1 mg/ml	2.5 mg/ml
Albumin	35 mg/ml	52 mg/ml
Hemoglobin	100 mg/ml	200 mg/ml
Rádiová frekvence	200 jednotek/ml	400 jednotek/ml
Exogenní Látky		
Látka	Nízká Koncentrace	Vysoká Koncentrace
Intralipidy	2.0 mg/ml	20 mg/ml
Cyklofosfamid	0.183 mg/ml	0.549 mg/ml
Ibuprofen	0.073 mg/ml	0.219 mg/ml
Hydroxychlorochin	0.006 mg/ml	0.024 mg/ml
Simvastatin	0.0000277 mg/ml	0.000083 mg/ml
Prednison	0.000033 mg/ml	0.000099 mg/ml
Azathioprin	0.00086 mg/ml	0.00258 mg/ml
Diltiazem	0.0003 mg/ml	0.0009 mg/ml
Mykofenolát mofetil	0.012 mg/ml	0.048 mg/ml
Rituximab	0.5 mg/ml	2 mg/ml
Belimumab	2 mg/ml	8 mg/ml
Methotrexát	0.454 mg/ml	1.36 mg/ml
Naproxen	0.12 mg/ml	0.36 mg/ml
Enalapril	Netestováno	819 ng/ml
Voklosporin	Netestováno	210 ng/ml

Žádný z interferujících látek neovlivnil očekávané výsledky žádných vzorků při analyzování metodami A a B. Při testování kombinací interferujících látek/vzorků poskytla metoda C u několika vzorků nejisté výsledky: vzorek „nízce negativní-2“ s vysokou koncentrací cyklofosfamidu, vzorek „nízce pozitivní-2“ s nízkou a vysokou koncentrací hydroxychlorochinu, vzorek „středně pozitivní-2“ s nízkou koncentrací azathioprinu a vysokou koncentrací bilirubinu, vzorek „vysoce pozitivní-1“ s nízkou koncentrací triglyceridů a vysokou koncentrací albuminu. Celkově lze konstatovat, že u soupravy dsDNA (Crithidia I.) neexistuje riziko chybných výsledků v důsledku přítomnosti testovaných interferujících látek.

2. Návrh klinické studie výkonnosti:

660 klinicky charakterizovaných vzorků, které byly použity, je uvedeno v tabulce níže. Těchto 660 vzorků bylo rozděleno do alikvotních kvotací, zaslepeno, randomizováno a vyhodnoceno při screeningovém ředění 1:10 pomocí dsDNA (Crithidia I.) ve spojení s automatizovaným mikroskopickým systémem dIFine® ve třech nezávislých laboratořích. Kvalitativní výsledky interpretovali dva technici v každé laboratoři pro metodu A a B a jeden přístroj dIFine® pro metodu C. Vzorky pozitivní při interpretačních metodách A a B při screeningovém ředění 1:10 byly následně sériově ředěny za účelem stanovení koncového bodu ředění pomocí všech tří interpretačních metod.

Pro každou laboratoř byly výsledky použity k posouzení klinické specifity (potenciální zkřížené reaktivity), klinické citlivosti, kvalitativní shody mezi interpretačními metodami a shody titrů v koncových bodech mezi interpretačními metodami.

Cílová nemoc			n
Systémový lupus erythematoses			300
Kontrolní nemoci	Onemocnění spojená s ANA		n
	Onemocnění pojivové tkáně	Sjögrenův syndrom	30
		Sklerodermie	20
		Autoimunitní myozitida	30
		Smíšené onemocnění pojivové tkáně	20
		HŘEBEN	20
	Další autoimunitní onemocnění spojená s ANA	Autoimunitní hepatitida	20
		Primární biliární cholangitida	10
		Lupus vyvolaný léky	20
	Nemoci nesouvisející s ANA		n
	Jiná autoimunitní onemocnění	Celiakie	20
		Vaskulitida (ANCA)	30
		Crohnova choroba	10
		Revmatoidní artritida	30
		Autoimunitní tyreoiditida	30
		Zánětlivé onemocnění střev	10
		Ulcerózní kolitida	10
	Jiné nemoci	Fibromyalgie	10
		Infekční onemocnění	20
		Zhoubné onemocnění/rakovina	20
Celkový:			660

3. Klinická citlivost a klinická specifita:

Klinická citlivost byla vypočítána na každém site s použitím kvalitativních výsledků odvozených ze vzorků systémového lupus erythematoses (n = 300). Specifičnost byla vypočítána z kombinovaného souboru kvalitativních výsledků odvozených ze vzorků kontrolního onemocnění. (n = 360).

a. Klinický výkon na site 1

Diagnostická citlivost a specifita			SLE (n = 300) % Citlivost (95% interval spolehlivosti)	Kontrolní onemocnění (n = 360) % Specifita (95% interval spolehlivosti)
Site 1	Metoda A	Technik A	26.67 (21.98 - 31.94)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Metoda A	Technik B.	27.00 (22.29 - 32.29)	99.72 (98.44 - 99.95)
	Metoda B	Technik A	26.67 (21.98 - 31.94)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Metoda B	Technik B.	27.00 (22.29 - 32.29)	99.44 (98.00 - 99.85)
	Metoda C	dIFine	27.00 (22.29 - 32.29)	99.17 (97.58 - 99.72)

b. Klinický výkon na site 2

Diagnostická citlivost a specifita			SLE (n = 300) % Citlivost (95% interval spolehlivosti)	Kontrolní onemocnění (n = 360) % Specifita (95% interval spolehlivosti)
Site 2	Metoda A	Technik A	24.33 (19.82 - 29.49)	99.72 (98.44 - 99.95)
	Metoda A	Technik B.	25.00 (20.44 - 30.20)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Metoda B	Technik A	25.00 (20.44 - 30.20)	99.72 (98.44 - 99.95)
	Metoda B	Technik B.	24.33 (19.82 - 29.49)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Metoda C	dIFine	22.33 (17.99 - 27.38)	99.17 (97.58 - 99.72)

c. Klinický výkon na site 3

Diagnostická citlivost a specifita			SLE (n = 300) % Citlivost (95% interval spolehlivosti)	Kontrolní onemocnění (n = 360) % Specifita (95% interval spolehlivosti)
Site 3	Metoda A	Technik A	25.33 (20.74 - 30.55)	98.89 (97.18 - 99.57)
	Metoda A	Technik B.	25.67 (21.05 - 30.90)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Metoda B	Technik A	25.33 (20.74 - 30.55)	97.78 (95.68 - 98.87)
	Metoda B	Technik B.	25.67 (21.05 - 30.90)	97.50 (95.32 - 98.68)
	Metoda C	dIFine	24.33 (19.82 - 29.49)	97.50 (95.32 - 98.68)

Hodnoty citlivosti pro kohortu SLE se pohybovaly od 22,33 % do 27,0 % napříč všemi třemi metodami a všemi třemi site. Procentuální pozitivita pozorovaná v kohortě SLE se zdála být nižší, než se očekávalo; nicméně byla v souladu se souhrny FDA 510k z podobných

zařízení. Nižší procentuální pozitivita může být způsobena řadou faktorů závislých na pacientovi v době odběru séra, jako například: přítomnost silné imunosupresivní léčby, nízká aktivita onemocnění nebo remise onemocnění. Procentuální pozitivita v této kohortě SLE byla dále potvrzena pomocí dalšího produktu IFA anti-dsDNA Crithidia I. schváleného FDA. Klinická specifita v kontrolní kohortě s onemocněními se pohybovala od 97,5 % do 99,72 % napříč všemi třemi metodami a na všech třech místech. Pokud se zprůměrují všechny metoda interpretace na všech třech místech, klinická senzitivita ve skupině SLE dosáhla průměrné hodnoty 25,44 % a klinická specifita v kontrolní skupině s onemocněním dosáhla průměrné hodnoty 99,06 %.

4. Porovnání interpretačních metod:

Na všech třech klinických pracovištích bylo testováno 660 klinických vzorků. Vzhledem k interpretacím zaznamenaným na všech třech pracovištích pro těchto 660 vzorků existovalo celkem 3 960 případů, kdy bylo možné porovnat výsledky metoda A s metodou B, metoda A s metodou C a metoda B s metodou C. Souhrn těchto kvalitativních srovnání je uveden v níže uvedených tabulkách:

a. Kvalitativní srovnání metoda A a metoda B

Metoda A vs. metoda B		Pozitivní shoda vzorku (95% interval spolehlivosti)	Negativní shoda vzorku (95% interval spolehlivosti)	Celková shoda vzorku (95% interval spolehlivosti)
Site 1	Technik A	83/83, 100.00 % (95.58 - 100.00)	577/577, 100.00 % (99.34 - 100.00)	660/660, 100.00 % (99.42 - 100.00)
	Technik B	81/82, 98.78 % (93.41 - 99.78)	576/578, 99.65 % (98.75 - 99.91)	657/660, 99.55 % (98.67 - 99.85)
Site 2	Technik A	74/74, 100.00 % (95.07 - 100.00)	584/586, 99.66 % (98.76 - 99.91)	658/660, 99.70 % (98.90 - 99.92)
	Technik B	76/78, 97.44 % (91.12 - 99.29)	582/582, 100.00 % (99.34 - 100.00)	658/660, 99.70 % (98.90 - 99.92)
Site 3	Technik A	80/80, 100.00 % (95.42 - 100.00)	576/580, 99.31 % (98.24 - 99.73)	656/660, 99.39 % (98.45 - 99.76)
	Technik B	80/80, 100.00 % (95.42 - 100.00)	574/580, 98.97 % (97.76 - 99.53)	654/660, 99.09 % (98.03 - 99.58)

b. Kombinovaná kvalitativní shoda pro metodu A vs. metodu B Všechna Site/Všichni technici

		Metoda A	
		Pozitivní	Negativní
Metoda B	Pozitivní	474	14
	Negativní	3	3469

Pozitivní procentuální shoda = 99.37 % (474/477)

95% interval spolehlivosti = 98.17 - 99.79 %

Negativní procentuální shoda = 99.60 % (3469/3483)

95% interval spolehlivosti = 99.33 - 99.76 %

Celková procentuální shoda = 99.57 % (3943/3960)

95% interval spolehlivosti = 99.31 - 99.73 %

c. Kvalitativní srovnání metoda A a metoda C

Pro srovnání mezi metodou A a metodou C byly tyto hodnoty vypočítány dvakrát; jednou za předpokladu, že všechny výsledky metoda C, které byly UNC, byly považovány za „negativní“, a jednou za předpokladu, že všechny výsledky metoda C, které byly UNC, byly považovány za pozitivní.

Metoda A vs Metoda C (UNC = negativní)		Shoda u pozitivních vzorků (95% CI)	Shoda u negativních vzorků (95% CI)	Celková shoda vzorků (95% CI)
Místo 1	Technik A	79/83, 95.18% (88.25 - 98.11)	572/577, 99.13% (97.99 - 99.63)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
	Technik B	77/82, 93.90% (86.51 - 97.37)	571/578, 98.79% (97.52 - 99.41)	648/660, 98.18% (96.85 - 98.96)
Místo 2	Technik A	68/74, 91.89% (83.42 - 96.23)	585/586, 99.83% (99.40 - 99.97)	653/660, 98.94% (97.94 - 99.43)
	Technik B	69/78, 88.46% (79.50 - 93.91)	582/582, 100.00% (99.34 - 100.00)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
Místo 3	Technik A	77/80, 96.25% (89.55 - 98.92)	580/580, 100.00% (99.34 - 100.00)	657/660, 99.55% (98.67 - 99.84)
	Technik B	76/80, 95.00% (87.84 - 98.04)	579/580, 99.83% (99.03 - 99.97)	655/660, 99.24% (98.24 - 99.68)

Metoda A vs Metoda C (UNC = POZ)		Shoda u pozitivních vzorků (95% CI)	Shoda u negativních vzorků (95% CI)	Celková shoda vzorků (95% CI)
Místo 1	Technik A	81/83, 97.59% (91.63 - 99.34)	568/577, 98.44% (97.06 - 99.18)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
	Technik B	79/83, 95.18% (88.25 - 98.11)	567/578, 98.10% (96.63 - 99.03)	646/660, 97.88% (96.47 - 98.73)
Místo 2	Technik A	73/74, 98.65% (92.73 - 99.76)	577/586, 98.47% (97.11 - 99.15)	650/660, 98.48% (97.23 - 99.17)
	Technik B	76/78, 97.44% (91.13 - 99.29)	576/582, 98.97% (97.73 - 99.57)	652/660, 98.79% (97.62 - 99.39)
Místo 3	Technik A	78/80, 97.50% (91.34 - 99.31)	571/580, 98.45% (97.09 - 99.18)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
	Technik B	77/80, 96.25% (89.55 - 98.72)	570/580, 98.28% (96.86 - 99.06)	647/660, 98.03% (96.60 - 98.85)

d. Kombinovaná kvalitativní shoda pro metodu A vs. metodu C Všechna Site/Všichni technici

		Metoda A	
		Pozitivní	Negativní
Metoda C (pokud UNC = Neg)	Pozitivní	446	14
	Negativní	31	3469

Shoda v procentech pro pozitivní vzorky = 93.50 % (446/477)
 Shoda v procentech pro negativní vzorky = 99.60 % (3469/3483)
 Celková procentuální shoda = 98.31 % (3893/3960)

95% interval spolehlivosti = 90.92 – 95.38 %
 95% interval spolehlivosti = 99.33 – 99.76 %
 95% interval spolehlivosti = 97.86 – 98.66 %

		Metoda A	
		Pozitivní	Negativní
Metoda C (pokud UNC = POZ)	Pozitivní	446	14
	Negativní	31	3429

Shoda v procentech pro pozitivní vzorky = 97.27 % (464/477)
 Shoda v procentech pro negativní vzorky = 98.45 % (3429/3483)
 Celková procentuální shoda = 98.31 % (3893/3960)

95% interval spolehlivosti = 95.39 – 98.40 %
 95% interval spolehlivosti = 97.98 – 98.81 %
 95% interval spolehlivosti = 97.86 – 98.66 %

e. Kvalitativní srovnání metoda B a metoda C

Pro srovnání mezi metodou B a metodou C byly tyto hodnoty vypočítány dvakrát; jednou za předpokladu, že všechny výsledky metoda C, které byly UNC, byly považovány za „negativní“, a jednou za předpokladu, že všechny výsledky metoda C, které byly UNC, byly považovány za pozitivní.

Metoda B vs Metoda C (UNC = negativní)		Shoda u pozitivních vzorků (95% CI)	Shoda u negativních vzorků (95% CI)	Celková shoda vzorků (95% CI)
Místo 1	Technik A	79/83, 95.18 % (88.25 – 98.11)	572/577, 99.13 % (97.99 – 99.63)	651/660, 98.64 % (97.43 – 99.28)
	Technik B	78/83, 93.98 % (86.66 – 97.40)	571/577, 98.96 % (97.75 – 99.52)	649/660, 98.33 % (97.04 – 99.07)
Místo 2	Technik A	68/76, 89.47 % (80.58 – 94.57)	583/594, 99.83 % (99.04 – 99.97)	651/660, 98.64 % (97.43 – 99.28)
	Technik B	69/76, 90.79 % (82.19 – 95.47)	584/584, 100.00 % (99.35 – 100.00)	653/660, 98.94 % (97.83 – 99.49)
Místo 3	Technik A	77/84, 91.67 % (83.78 – 95.90)	576/576, 100.00 % (99.34 – 100.00)	653/660, 98.94 % (97.83 – 99.49)
	Technik B	77/86, 89.53 % (81.29 – 94.40)	574/574, 100.00 % (99.34 – 100.00)	651/660, 98.64 % (97.43 – 99.28)

Metoda B vs Metoda C (UNC = pozitivní)		Shoda u pozitivních vzorků (95% CI)	Shoda u negativních vzorků (95% CI)	Celková shoda vzorků (95% CI)
Místo 1	Technik A	81/83, 97.59 % (91.63 – 99.34)	568/577, 98.44 % (97.06 – 99.18)	649/660, 98.33 % (97.04 – 99.07)
	Technik B	80/83, 96.39 % (88.90 – 98.76)	567/577, 98.27 % (96.84 – 99.06)	647/660, 98.03 % (96.66 – 98.85)
Místo 2	Technik A	74/76, 97.37 % (90.90 – 99.28)	576/584, 98.63 % (97.32 – 99.30)	650/660, 98.48 % (97.23 – 99.17)
	Technik B	75/76, 98.68 % (92.92 – 99.77)	577/584, 98.80 % (97.55 – 99.42)	652/660, 98.79 % (97.63 – 99.38)
Místo 3	Technik A	81/84, 96.43 % (90.02 – 98.78)	570/576, 98.96 % (97.75 – 99.52)	651/660, 98.64 % (97.43 – 99.28)
	Technik B	82/86, 95.35 % (88.64 – 98.18)	569/574, 99.13 % (97.98 – 99.63)	651/660, 98.64 % (97.43 – 99.28)

f. Kombinovaná kvalitativní shoda pro metodu B vs. metodu C Všechna Site/Všichni technici

		Metoda B	
		Pozitivní	Negativní
Metoda C (pokud UNC = Neg)	Pozitivní	448	12
	Negativní	40	3460

Shoda v procentech pro pozitivní vzorky = 91.80 % (448/488)
 Shoda v procentech pro negativní vzorky = 99.65 % (3460/3472)
 Celková procentuální shoda = 98.69 % (3908/3960)

95% interval spolehlivosti = 89.03 – 93.92 %
 95% interval spolehlivosti = 99.40 – 99.80 %
 95% interval spolehlivosti = 98.28 – 99.00 %

		Metoda B	
		Pozitivní	Negativní
Metoda C (pokud UNC = POZ)	Pozitivní	473	45
	Negativní	15	3427

Shoda v procentech pro pozitivní vzorky = 96.93 % (473/488)
 Shoda v procentech pro negativní vzorky = 98.70 % (3427/3472)
 Celková procentuální shoda = 98.48 % (3900/3960)

95% interval spolehlivosti = 94.99 – 98.13 %
 95% interval spolehlivosti = 98.27 – 99.03 %
 95% interval spolehlivosti = 98.06 – 98.82 %

Ve všech případech je kvalitativní shoda mezi interpretačními metodami poměrně vysoká, což naznačuje, že všechny tři metoda (manuální mikroskop, digitální odečet z dIFine® a automatizované vyvolání z dIFine®) spolu dobře korelují a vykazují jen málo rozdílů. Celkově vzato tato data ukazují, že automatické volání identifikované pomocí dIFine® (metoda C) se u převážné většiny vzorků shoduje s metodou A a/nebo metodou B (neautomatizované metoda identifikace). Konečné rozhodnutí je však stále na vyškoleném operátorovi.

ODKAZ

1. Robbins WC, Holman HR, Deicher HRG a kol.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:575, 1957.
2. Seligman M: Cr. Acad. Sci. (Paříž), 245:243, 1957.
3. Ceppellini R, Polli E, Celada F: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:572, 1957.
4. Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG: J. Exp. Med. 109:97, 1959.
5. Dubois EL: J. Rheumatol. 2:204, 1975.
6. Epstein WV: J. Rheumatol. 2:215, 1975.
7. Blomgren SE: Seminářs Heamtol. 10:345, 1973.
8. Alarcon-Segovia D, Fishbein E: J. Rheumatol. 2:167, 1975.
9. Klajman A, Farkas R, Gold E, Ben-Efraim S: Clin. Immunol. Immunopat. 3:525, 1975.
10. Pincus T, Schur PH, Rose JA: N. Engl. J. Med. 281:701, 1969.
11. Koffler D, Carr RI, Agnello V, a kol.: Science 166:1648, 1969.
12. Gershwin ME, Steinberg AD: Artritida. Rheum. 17:947, 1974.
13. Casals SP, Friou GJ, Myers LI: Artritida. Rheum. 7:379, 1964.
14. Arana R, Seligmann M: J. Clin. Invest. 46:1867, 1967.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RI a kol.: J. Clin. Invest. 45:1732, 1966.
16. Stollar D, Levine L, Leher HI a kol.: Proč. Nat'l. Akad. Sci. USA 48:874, 1962.
17. Bosicevich J, Nasou JP, Kayhoe DE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:636, 1960.
18. Jokinen EJ, Julkunen H: Ann. Rheum. Dis. 24:477, 1965.
19. Matrer R, Helgeland SM, Tonder O: J. Immunol. Methods 5:345, 1974.
20. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: Clin. Exp. Immunol. 3:641, 1968.
21. Davis JS, IV: Artritida. Rheum. 14:377, 1971.
22. Johnson GD, Edmonds JP, Holbrow EJ: Lancet 2:883, 1973.
23. Wold RT, Young FE, Tan EM a kol.: Science 161:806, 1968.
24. Farr Rd: J. Infect. Dis. 103:239, 1958.
25. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG: J. Exp. Med. 126:607, 1967.
26. Harbeck RJ, Bardana EJ, Kohler PF a kol.: J. Clin. Investovat. 52:789, 1973.
27. Cohen SA, Hughes GRV, Noel GL a kol.: Clin. Exp. Immunol. 8:551, 1971.
28. Natali PG, Tan EM: J. Clin. Investovat. 51:345, 1972.
29. Aarden LA, deGroot ER, Feltkamp EW: Ann. NY Acad. Sci. 254:505, 1975.
30. Slater NGP, Cameron JS a Lessof MH: Clin. Exp. Immunol. 25:480, 1976.
31. Stingl G, Meingassner JG, Swelty P a kol.: Clin. Immunol. Immunopath. 6:131, 1976.
32. Davis P, Christian B. a Russel AS: J. Rheumatol. 4:15, 1977.
33. Tourville DR a Benn V: Mikrobiologický sborník, 1977.
34. Postupy pro odběr diagnostických vzorků krve venepunkcí. Druhé vydání: Schválený standard (1984). Vydal Národní výbor pro klinické laboratorní standardy.
35. Postupy pro manipulaci s krevními vzorky a jejich zpracování. Dokument NCCLS H18-A, sv. 10, č. 12, schválená směrnice, 1990.
36. Ministerstvo práce USA, Správa bezpečnosti a ochrany zdraví při práci: Expozice patogenům přenášeným krví na site, konečné pravidlo. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
37. Postupy pro manipulaci a zpracování vzorků krve pro běžné laboratorní testy; Schválené pokyny – 4. vydání (2010). Dokument CLSI GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
38. Admou B, Eddehbi FE, Elmoumou L, Elmojadili S, Salami A, Oujidi M, Brahim I, Hazime R. Protilátky proti dvouvláknové DNA: Racionální diagnostický přístup v prostředí s omezenými zdroji. Pract Lab Med. 3. června 2022;31:e00285. doi: 10.1016/j.plabm.2022.e00285. PMID: 35711387; PMCID: PMC9192786.
39. Pan N, Amigues I, Lyman S, Duculan R, Aziz F, Crow MK, Kirou KA. Nárůst titru anti-dsDNA predikuje závažné vzplanutí lupusu do šesti měsíců. Lupus. 2014 březen;23(3):293-8. doi: 10.1177/0961203313515763. Epub 2013 6. prosince. PMID: 24316605.
40. Swaak AJ, Groenwold J, Aarden LA, Statius van Eps LW, Feltkamp EW. Prognostická hodnota anti-dsDNA u SLE. Ann Rheum Dis. 1982 srpen;41(4):388-95. doi: 10.1136/ard.41.4.388. PMID: 6981385; PMCID: PMC1000956.

SLOVNÍČEK SYMBOLŮ

V označení tohoto produktu mohly být použity následující symboly.

Symbol	Popis	Symbol	Popis
	Výrobce		Chraňte před slunečním zářením
IVD	<i>In vitro diagnostický lékařský prostředek</i>	CE	Shoda s směrnicí 98/79
REF	Katalogové číslo	COVGLS	Krycí sklíčko
	Dostatečné pro n testů	SLD	Sklíčko se substrátem
LOT	Šaržový kód	BUF PBS	Pufr PBS
	Použit do	MNTMED	Montovací médium
	Omezení skladovací teploty	CONJ	Konjugát
RX Only	Pouze na lékařský předpis	CONTROL +	Pozitivní kontrola
	Konzultovat do elektronického pokyny k použití	CONTROL -	Negativní kontrola
	Skladujte ve vzpřímený poloze	Made in the USA	Vyrobeno v USA



ZEUS Scientific.

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Bezplatná linka (USA): 1-800-286-2111, možnost 2

Mezinárodní: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Webová stránka: www.zeusscientific.com

Pro zákaznický servis v USA kontaktujte svého místního distributora.

Pro technickou podporu v USA kontaktujte ZEUS Scientific, volejte bezplatně nebo

e-mail support@zeusscientific.com.

S dotazy ohledně zákaznického servisu a technické podpory mimo USA se prosím obraťte na svého místního distributora.

©2019 ZEUS Scientific. Všechna práva vyhrazena.



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands