



DE

dsDNA (Crithidia I.)

REF FA1001

IVD

Rx Only

Σ 100

CE

VERWENDUNGSZWECK

Das dsDNA (Crithidia I.) Kit ist ein indirekter Immunfluoreszenztest unter Verwendung von Crithidia luciliae für die qualitative und semiquantitative Bestimmung von doppelsträngigen DNA (dsDNA) IgG-Antikörpern gegen DNA in Humanserum durch manuelle Fluoreszenzmikroskopie oder mit dem automatisierten dIFine®-Mikroskop. Das Vorhandensein von dsDNA-Antikörpern in Verbindung mit anderen serologischen und klinischen Befunden kann zur Unterstützung der Diagnose von systemischem Lupus erythematoses (SLE) verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

dsDNA-Antikörper werden häufig in Seren von Patienten mit aktivem spontanem systemischem Lupus erythematoses (SLE) und arzneimittelinduzierten Lupuserkrankungen gefunden (1 - 9). Das Vorhandensein von dsDNA-Antikörpern weist auf einen aktiven SLE hin und korreliert eng mit dem Auftreten von Lupusnephritis (5, 10 - 13). Die Spezifität von dsDNA-Antikörpern gegen SLE ist viel größer als bei antinukleären Antikörpern (5, 12). Daher liefert der Nachweis von dsDNA-Antikörpern wertvolle diagnostische und prognostische Informationen für die Differentialdiagnose von SLE (5, 10 - 13). DNA-Antikörper wurden vor einigen Jahrzehnten in Seren von Patienten mit SLE entdeckt (1 - 4). Seitdem wurden DNA-Antikörper mit einer Reihe von Techniken untersucht, einschließlich Geldiffusion (1, 14 - 15), Komplementfixierung (2, 14 und 16), Agglutination (17, 18), DNA-Spot-Tests (13, 19), Radioimmunelektrophorese (20), Gegenimmunelektrophorese (21, 22), Ammoniumsulfatfällung (10, 23 und 24) und ELISA (38). Es wurden erhebliche Anstrengungen unternommen, um die Spezifität von DNA-Antikörpern zu bestimmen. Es ist nun offensichtlich, dass Antikörper gefunden wurden, die entweder mit dsDNA oder denaturierter einzelsträngiger (sDNA) oder beidem reagieren (8, 12, 14 und 20). Es wird angenommen, dass dsDNA-Antikörper mit der klinischen Aktivität der Krankheit korrelieren (2, 5, 10, 25, 39, 40). Darüber hinaus wurden Antikörper gegen dsDNA aus den Nieren von Patienten mit SLE eluiert, und ein Bericht zeigte das Vorhandensein von DNA-Anti-dsDNA-Komplexen in Seren von Patienten mit aktivem SLE (26). Diese Antikörper wurden jedoch bei Patienten mit und ohne aktive Lupusnephritis gefunden (27, 28).

Der dsDNA (Crithidia I.) Indirect Fluorescent Assay (IFA) -Assay basiert auf der Verwendung des Crithidia I. Kinetoplast-Substrats, das erstmals von Aarden et al. beschrieben wurde (29). Diese Methode ist ein nützlicher Labortest zum Nachweis von dsDNA-Antikörpern bei Patienten mit systemischem Lupus erythematoses (30 - 33).

PRINZIP DES ASSAYS

Der dsDNA (Crithidia I.) Kit ist ein indirekter Fluoreszenzantikörpertest (IFA) zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung von Anti-dsDNA-IgG-Antikörpern in humanen Seren. Die Reaktion erfolgt in zwei Schritten:

- Schritt eins; Wenn dsDNA-Antikörper vorhanden sind, findet im ersten Schritt eine Reaktion zwischen dsDNA-Antikörpern und dem Kinetoplasten des Crithidia I. Substrats statt.
- Schritt zwei; Ziegen-Anti-Human-IgG-Konjugat, das mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC) markiert ist, wird dem Substrat zugesetzt. Wenn die Seren des Patienten Anti-dsDNA-IgG-Antikörper enthalten, wird bei der Untersuchung der Objektträger mit dem Fluoreszenzmikroskop eine positive apfelgrün fluoreszierende Antigen-Antikörper-Reaktion beobachtet. Eine positive Reaktion wird als intensive Färbereaktion in den kleinen Kinetoplasten des Crithidia I. Organismus erkannt.

REAGENS

Bereitgestellte Materialien:

Jedes Testsystem enthält die folgenden Komponenten in ausreichender Menge, um die auf dem Verpackungsetikett angegebene Anzahl von Tests durchzuführen. **HINWEIS: Konjugat und Kontrollen enthalten eine Kombination aus Proclin (0,05% v/v) und Natriumazid (<0,1% w/v) als Konservierungsmittel.**

SLD	1	Crithidia I. Substratträger: Zehn, 10-Well-Objektträger mit Löschpapier.
CONJ	2	Konjugat: Ziegen-Anti-Human-IgG, markiert mit FITC. Enthält Phosphatpuffer mit BSA und Gegenfärbung. Zwei 3,5 ml Flaschen mit Bernsteinverschluss. Einsatzbereit.

CTRL	+	3	Positivkontrolle (Humanserum): Führt zu einer positiven apfelgrünen Färbung des Kinetoplasten in den Crithidia l. Organismen. Eine 0,5 ml-Durchstechflasche mit rotem Verschluss. Einsatzbereit.
CTRL	-	4	Negativkontrolle (Humanserum): Erzeugt keine nachweisbare dsDNA-Färbung. Eine 0,5 ml-Durchstechflasche mit grünem Verschluss. Einsatzbereit
BUF	PBS	5	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS): pH 7,2 ± 0,2. Leeren Sie den Inhalt jedes Pufferpakets in einen Liter destilliertes oder deionisiertes Wasser. Mischen, bis alle Salze vollständig aufgelöst sind. Zwei Päckchen, ausreichend für die Zubereitung von 2 Litern.
MNTMED		6	Eindeckmedium (gepuffertes Glycerin): Eine 3,0 ml weiß verschlossene Tropfer-Tripper-Durchstechflasche
COVGLS		7	Deckglas. Paket von zwölf, 24 x 60 mm, Dicke #1.

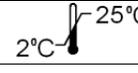
NOTIZEN:

Die folgenden Komponenten sind nicht von der Chargennummer des Kits abhängig und können austauschbar mit den Sebia IFA-Produkten verwendet werden, sofern die Produktnummern identisch sind: **Eindeckmedien (Produktnummer: FA0009S), Negativkontrolle (FA2005-IUNC), Deckglas (Produkt S8007) und PBS (Produktnummer: 0008S).**

BENÖTIGTE, ABER NICHT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

1. dIFine® automatisiertes Mikroskop oder ein entsprechend ausgestattetes Fluoreszenzmikroskop.
2. Pipetten, die Volumina zwischen 10 und 200 µl pipettieren können.
3. Einweg-Pipettenspitzen.
4. Kleine Reagenzgläser, Verdünnungsplatten oder ähnliches zur Vorbereitung von Probenverdünnungen.
5. Objektträgerwaschmaschine oder eine große Färbeschale mit Magnetrührplatte zum Waschen von Objektträgern zwischen den Inkubationsschritten.
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
7. 1 Liter Messzylinder.
8. Labor-Timer zur Überwachung der Inkubationsschritte.
9. Entsorgungsbecken, Einweghandschuhe und Desinfektionsmittel (z. B.: 10% Haushaltsbleiche – 0,5% Natriumhypochlorit).

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

	Ungeöffnetes Kit.
	Eindeckmedien, Konjugat, Objektträger, Positiv- und Negativkontrollen.
	Rehydriertes PBS (30 Tage stabil).
	Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS) -Pakete.

VORKEHRUNG

1. Für die In-vitro-Diagnostik.
2. Befolgen Sie die üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Laborreagenzien. Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Dampf nicht einatmen. Entsorgen Sie Abfälle unter Beachtung aller lokalen, staatlichen und bundesstaatlichen Gesetze.
3. Die Vertiefungen des Objektträgers enthalten keine lebensfähigen Organismen. **Berücksichtigen Sie jedoch die** Folie potenziell biogefährdende Materialien und behandeln Sie sie entsprechend.
4. Die Kontrollen sind **potenziell biogefährdende Materialien**. Ausgangsmaterialien, aus denen diese Produkte gewonnen wurden, wurden nach zugelassenen Testmethoden als negativ für HIV-1-Antigen, HBsAg und für Antikörper gegen HCV und HIV befunden. Da jedoch keine Testmethode die vollständige Sicherheit bieten kann, dass keine Infektionserreger vorhanden sind, sollten diese Produkte auf der Biosicherheitsstufe 2 gehandhabt werden, wie sie für potenziell infektiöse Humanserum- oder Blutproben in den Zentren für Krankheitskontrolle / National Institutes of Health empfohlen wird Handbuch "Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Laboratorien": aktuelle Ausgabe; und OSHA-Standard für durch Blut übertragene Krankheitserreger (20).
5. Die Einhaltung der angegebenen Inkubationszeit und -temperatur ist für genaue Ergebnisse unerlässlich. **Alle Reagenzien müssen Raumtemperatur (20 - 250C) erreichen, bevor der Assay gestartet wird.** Geben Sie nicht verwendete Reagenzien sofort in ihre Originalbehälter zurück und befolgen Sie die Lagerungsvorschriften.
6. Unsachgemäßes Waschen kann zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen. Achten Sie darauf, die Menge an restlichem PBS durch Blotzen zu minimieren, bevor Sie Konjugat hinzufügen. Lassen Sie die Vertiefungen zwischen den Inkubationen nicht austrocknen.

7. Konjugat und Kontrollen enthalten Natriumazid in einer Konzentration von <math><0,1\% (w/v)</math>. Es wurde berichtet, dass Natriumazid in Laborleitungen Blei- oder Kupferazide bildet, die beim Hämmern Explosionen verursachen können. Um dies zu verhindern, spülen Sie die Spüle nach der Entsorgung der natriumazidhaltigen Lösung gründlich mit Wasser ab. Dieses Konservierungsmittel kann bei Verschlucken giftig sein.
8. Eine Verdünnung oder Verfälschung dieser Reagenzien kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
9. Niemals mit dem Mund pipettieren. Vermeiden Sie den Kontakt von Reagenzien und Patientenproben mit Haut und Schleimhäuten.
10. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden. Es können falsche Ergebnisse auftreten.
11. Kreuzkontaminationen von Reagenzien und/oder Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
12. Wiederverwendbare Glaswaren müssen gewaschen und gründlich frei von allen Reinigungsmitteln gespült werden.
13. Spritzer oder Aerosolbildung vermeiden.
14. Setzen Sie die Reagenzien während der Lagerung oder Inkubation keinem starken Licht aus.
15. Wenn Sie das Objektträgerpaket vor dem Öffnen der Schutzhülle auf Raumtemperatur äquilibrieren lassen, werden die Vertiefungen und der Löschpapier vor Kondensation geschützt.
16. Sammeln Sie die Waschlösung in einem Entsorgungsbecken. Behandeln Sie die Abfalllösung mit Desinfektionsmittel (d. H.: 10% Haushaltsbleiche – 0,5% Natriumhypochlorit). Vermeiden Sie die Einwirkung von Bleichdämpfen auf die Reagenzien.
17. Setzen Sie keines der reaktiven Reagenzien bleichmittelhaltigen Lösungen oder starken Gerüchen aus bleichmittelhaltigen Lösungen aus. Spuren von Bleichmittel (Natriumhypochlorit) können die biologische Aktivität vieler reaktiver Reagenzien in diesem Testsystem zerstören.
18. Üben Sie keinen Druck auf den Folienumschlag aus. Dies kann den Untergrund beschädigen.
19. Die Komponenten dieses Testsystems sind auf optimale Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit abgestimmt. Reagenzien anderer Hersteller sollten nicht ausgetauscht werden. Befolgen Sie die Packungsbeilage sorgfältig.
20. Ungeöffnete / geöffnete Komponenten sind bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar, sofern die empfohlenen Lagerungsbedingungen strikt eingehalten werden. Nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden. Nicht einfrieren.
21. Evans-Blau-Gegenfärbung ist ein potenzielles Karzinogen. Bei Hautkontakt mit Wasser spülen. Entsorgung gemäß den örtlichen Vorschriften.
22. Lassen Sie die Objektträger während des Eingriffs nicht trocknen. Abhängig von den Laborbedingungen kann es erforderlich sein, Objektträger während der Inkubation in eine feuchte Kammer zu legen.

PROBENENTNAHME

1. Probenentnahme gemäß CLSI-Dokument M29: Schutz des Laborpersonals vor beruflich erworbenen Infektionskrankheiten durchführen. Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass menschliche Blutproben keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate als potenziell infektiös angesehen werden.
2. Nur frisch entnommene und ordnungsgemäß gekühlte Seren, die mit diesem Assay durch zugelassene aseptische Venenpunktionsverfahren gewonnen wurden (34, 35). Es sollten keine Antikoagulanzen oder Konservierungsmittel zugesetzt werden. Vermeiden Sie hämolysierte, lipämische oder bakteriell kontaminierte Seren.
3. Lagern Sie die Probe nicht länger als 8 Stunden bei Raumtemperatur. Wenn der Test nicht innerhalb von 8 Stunden durchgeführt wird, können die Seren zwischen 2 und 8°C nicht länger als 48 Stunden gelagert werden. Wenn eine Verzögerung des Tests zu erwarten ist, lagern Sie die Testseren bei -20 °C oder niedriger. Vermeiden Sie mehrfache Einfrier- / Auftauzyklen, die zu einem Verlust der Antikörperaktivität und zu fehlerhaften Ergebnissen führen können. Es liegt in der Verantwortung des einzelnen Labors, alle verfügbaren Referenzen und/oder seine eigenen Studien zu verwenden, um Stabilitätskriterien für sein Labor zu bestimmen (37).

TESTVERFAHREN

1. Objektträger und andere Kitkomponenten aus der Kühllagerung nehmen und auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) erwärmen lassen. Schutzumschlag aufreißen und Objektträger entnehmen. **Üben Sie keinen Druck auf die flachen Seiten der Schutzhülle aus.**
2. Identifizieren Sie jede Vertiefung mit den entsprechenden Patientenserum und Kontrollen. **HINWEIS: Die Kontrollen sollen unverdünnt verwendet werden.** Bereiten Sie von jedem Patientenserum eine 1:10-Verdünnung (z. B.: 10 µl Serum + 90 µl PBS-Puffer) vor.

Semi-quantitative Optionen:

- a. Anwender können die Positivkontrolle auf den Endpunkt titrieren, um als semiquantitative (1+ Minimal reaktive) Kontrolle zu dienen. In solchen Fällen sollte die Kontrolle zweifach in PBS verdünnt werden. Eine Endpunktverdünnung wird festgelegt und auf die Positivkontrollflasche gedruckt (± eine Verdünnung). Es ist zu beachten, dass aufgrund von Abweichungen innerhalb des Labors (Ausrüstung usw.), sollte jedes Labor seinen eigenen erwarteten Endpunkttiter für jede Charge der Positivkontrolle festlegen.
- b. Bei der Titration von Patientenproben sollten die anfänglichen 1:10-Verdünnungen in PBS erfolgen und alle nachfolgenden Verdünnungen sollten ebenfalls in PBS hergestellt werden.
3. Mit geeignetem Spender 20 µl jeder Kontrolle und jedes verdünnten Patientenserums in die entsprechenden Vertiefungen geben.
4. Objektträger 35 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur (20 – 25°C) inkubieren.
5. Objektträger vorsichtig mit PBS abspülen. Wenn Sie manuell waschen, **leiten Sie keinen PBS-Strom in die Testvertiefungen.**

6. Waschen Sie die Objektträger in zwei 5-Minuten-Intervallen und wechseln Sie die PBS zwischen den Wäschen.
7. Entfernen Sie die Folien einzeln aus dem PBS. Schieben Sie die Objektträger- und Schlüsselschächte in die Löcher der mitgelieferten Löschlätter. Tupfen Sie den Objektträger ab, indem Sie die Rückseite mit einem saugfähigen Tuch abwischen. VORSICHT: Positionieren Sie den Löschzettel und schieben Sie ihn auf eine harte, ebene Oberfläche. Flecken auf Papiertüchern können die Objektträgermatrix zerstören. **Lassen Sie die Objektträger während des Testvorgangs nicht trocknen.**
8. Gib 20–40 µL Konjugat in jede Vertiefung.
9. Wiederholen Sie die Schritte 4 bis 7.
10. Tragen Sie 3–5 Tropfen Eindeckmedium auf jeden Objektträger zwischen den Vertiefungen auf und bringen Sie das Deckglas an. Alternativ kann man eine kleine Anzahl von Eindeckmedien auf jede Vertiefung auftragen und Deckglas auftragen. Untersuchen Sie die Objektträger sofort mit einer geeigneten Fluoreszenzmikroskopie.

HINWEIS: Wenn eine Verzögerung bei der Untersuchung der Objektträger zu erwarten ist, versiegeln Sie das Deckglas mit klarem Nagellack und lagern Sie es im Kühlschrank. Es wird empfohlen, die Objektträger am selben Tag wie die Tests zu untersuchen.

QUALITÄTSKONTROLLE

1. Jedes Mal, wenn der Test durchgeführt wird, müssen eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle beigefügt werden.
2. Es wird empfohlen, die Positiv- und Negativkontrollen zu lesen, bevor die Testergebnisse ausgewertet werden. Dies hilft bei der Festlegung der Referenzen, die zur Interpretation der Testprobe erforderlich sind. Wenn Steuerelemente nicht wie beschrieben angezeigt werden, sind die Ergebnisse ungültig.
 - a. Negativkontrolle - gekennzeichnet durch das Fehlen einer Fluoreszenzfärbung des Kinetoplasten. Eine Färbung nur des Zellkerns und / oder eine Färbung des Basalkörpers sollte als negativer Test interpretiert werden.
 - b. Positivkontrolle - gekennzeichnet durch eine apfelgrüne Fluoreszenzfärbung des Kinetoplasten. Die Färbung des Basalkörpers in Verbindung mit dem Kinetoplasten sollte als positives Ergebnis gewertet werden.
3. Zusätzliche Kontrollen können gemäß den Richtlinien oder Anforderungen lokaler, staatlicher und / oder bundesstaatlicher Vorschriften oder Akkreditierungsorganisationen getestet werden.

NOTIZEN:

- a. **Die Intensität der beobachteten Fluoreszenz kann mit dem verwendeten Mikroskop und Filtersystem variieren.**
- b. **Der Kinetoplasten befindet sich im Allgemeinen näher am Basalkörper als der Kern; Aufgrund der flüssigen Beschaffenheit des Endoplasmas kann die Position des Kinetoplasten jedoch von Zelle zu Zelle variieren (36).**
- c. **Lesen Sie nur einzelne, genau definierte Organismen in jedem Feld. Nicht alle Organismen erscheinen optimal; Die Morphologie kann zwischen den Organismen aufgrund der Fixierung, ihrer Wachstumsstadien und / oder ihrer Ausrichtung auf dem Objektträger beim Trocknen variieren (36).**

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

1. Titer unter 1:10 gelten als negativ.
2. Positiver Test: Jede beobachtete apfelgrüne Färbung des kleinen Kinetoplasten des Substratorganismus Crithidia I. in einer Verdünnung von 1: 10 basierend auf einer Skala von 1 + bis 4+. 1+ wird als schwache Reaktion und 4+ als starke Reaktion angesehen.
3. Für semiquantitative Ergebnisse sollten alle Seren, die bei 1:10 positiv sind, bis zur Endpunktverdünnung titriert werden. Dies wird erreicht, indem ein 1:10, 1:20, 1:40, usw., serielle Verdünnung aller positiven Patientenproben. Der Endpunkt ist die höchste Verdünnung, die eine positive Reaktion hervorruft.
4. Die gleichzeitige Färbung sowohl des kleinen Kinetoplasten als auch des angrenzenden größeren Crithidia I. nucleus sollte als positiver Test interpretiert werden.
5. Polarfärbung an der Basis der Flagellen ist nicht signifikant.
6. Eine Färbung nur des Zellkerns sollte nicht als positiver Test interpretiert werden.

EINSCHRÄNKUNGEN DES ASSAYS

1. Das dsDNA (Crithidia I.) Kit ist ein diagnostisches Hilfsmittel. Es ist daher unbedingt erforderlich, dass die Ergebnisse des dsDNA-Antikörpers von einer medizinischen Behörde im Lichte des klinischen Zustands des Patienten interpretiert werden.
2. SLE-Patienten, die sich einer Steroidtherapie unterziehen, können negative Testergebnisse aufweisen (5, 8 und 9).
3. Einige Medikamente, insbesondere Hydralazin, können die Produktion von dsDNA-Antikörpern induzieren (5, 6 und 8).

ERWARTETE ERGEBNISSE

Die erwarteten Werte in einer Normalpopulation sind bei einer Ausgangsverdünnung von 1:10 negativ. Bestimmte Medikamente können jedoch einen positiven dsDNA-Antikörpertest induzieren (5, 6).

LEISTUNGSMERKMALE

HINWEIS: Bei der Ermittlung der Leistungsmerkmale der dsDNA (Crithidia I.) wurden die Objektträger mit drei verschiedenen Methoden interpretiert, wie unten beschrieben:

Interpretationsmethode:

Methode A. Methode A war eine vollständig manuelle Interpretationsmethode. Dies wurde mit einem herkömmlichen Fluoreszenzmikroskop erreicht, das mit Objektiv- und Okularlinsen ausgestattet war. Die Bestimmung des qualitativen Ergebnisses wurde mit ausgebildeten Labortechnikern durchgeführt.

Methode B. Methode B wurde durchgeführt, indem die Objektträger mit dIFine® gescannt wurden und anschließend ein ausgebildeter Labortechniker die qualitativen Ergebnisse anhand des auf dem Computermonitor angezeigten digitalen Bildes interpretieren ließ.

Methode C. Methode C ist das vorgeschlagene Ergebnis, das von dIFine® vorhergesagt wird; Methode C sagt das qualitative Ergebnis voraus. Wenn **Methode C** "UNC" (unsicher) ist, liegt der mit dIFine gemessene Fluoreszenzgrad grenzwertig zwischen positiv und negativ oder anderen Merkmalen innerhalb der Objektträgervertiefung, die einen endgültigen Vorschlag verhinderten. Methode C muss vom Laboranten "validiert" oder akzeptiert oder modifiziert oder vollständig ungültig gemacht werden. Für die Zwecke dieser Studie und der unten dargestellten Daten wird Methode C "WIE besehen" ohne Änderungen durch den /die Labortechniker/in protokolliert. Es wird daher nur zu Informationszwecken präsentiert.

1. Analytische Leistungsstudien:**a. Geradlinigkeit:**

Es wurden zwei niedrig positive Serumproben (Endpunkt ~ 1: 10-1: 20), zwei mittel positive Serumproben (Endpunkt ~ 1: 40-1: 80) und zwei stark positive Serumproben (Endpunkt > 1: 320) identifiziert. Die sechs Proben wurden in einer Screening-Verdünnung von 1:10 sowie in Reihenverdünnungen von 1:20 bis 1:5120 untersucht und dann mit allen drei oben genannten Methoden interpretiert. Diese Studie wurde intern beim Hersteller durchgeführt. Die Endpunkte für jede Probe und jede Methode sind nachstehend aufgeführt:

Probe	Methode A	Methode B	Methode C
Niedrig positiv-1	1:10	1:20	1:20
Niedrig positiv-2	1:20	1:40	1:40*
Mittel positiv-1	1:40	1:80	1:80
Mittel positiv-2	1:40	1:80	1:80
Hoch Positiv-1	1:640	1:640	1:640
Hoch Positiv-2	1:640	1:640	1:640

* 1 UNC-Ergebnis bei der Verdünnung von 1:80 für niedrig positiv - 2 Proben wurden als negativ gezählt

Probe	Methode A	Methode B	Methode C
Niedrig positiv-1	1:10	1:20	1:20
Niedrig positiv-2	1:20	1:40	1:80**
Mittel positiv-1	1:40	1:80	1:80
Mittel positiv-2	1:40	1:80	1:80
Hoch Positiv-1	1:640	1:640	1:640
Hoch Positiv-2	1:640	1:640	1:640

** 1 UNC-Ergebnis bei der Verdünnung von 1:80 für niedrig positiv - 2 Proben wurden als positiv gezählt

Für die Methoden A und B wurde die Fluoreszenzintensität bei jeder Verdünnung unter Verwendung einer Skala von 4 aufgezeichnet, die sehr intensiv ist und 0 keine Fluoreszenz anzeigt. Die Probenverdünnungen und die zugehörigen Fluoreszenzintensitäten sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst:

Proben-ID	Beschreibung	1:10	1:20	Fluoreszenzintensität (4+bis 0); Methode a						1:2560	1 5120
				1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280		
1	Niedrig positive	1	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
2	Niedrig positive	2	1	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
3	Mittel positive	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4	Mittel positive	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
5	Hoch positive	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
6	Hoch positive	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0

Nt ; nicht getestet

Proben-ID	Beschreibung	1:10	1:20	Fluoreszenzintensität (4+bis 0); Methode a						1:2560	1 5120
				1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280		
1	Niedrig positive	1	1	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
2	Niedrig positive	2	1	1	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
3	Mittel positive	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
4	Mittel positive	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
5	Hoch positive	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
6	Hoch positive	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0

Nt ; nicht getestet

b. Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge:

Neun negative Serumproben, zwei niedrig positive Serumproben (Endpunkt ~ 1: 10-1: 20), zwei mittel positive Serumproben (Endpunkt ~ 1: 40-1: 80) und zwei stark positive Serumproben (Endpunkt > 1: 320) wurden identifiziert. Diese Gruppe von 15 Proben wurde in einer Screening-Verdünnung von 1:10 untersucht. Für die 6 positiven Proben wurden auch zusätzliche serielle Verdünnungen im Bereich von 1:20 bis 1:5120 untersucht und mit allen drei oben genannten Methoden interpretiert, um einen Endpunkttiter zu bestimmen.

Suchergebnisse:

- I. Qualitative Übereinstimmung:** Es gab eine 100% ige Übereinstimmung der qualitativen Ergebnisse bei der Screening-Verdünnung aller 15 Proben in allen 3 Kit-Chargen für die Interpretationsmethoden A und B. Für Los 3 wurde 1 UNC-Ergebnis über die Interpretationsmethode C bei der 1: 10-Screening-Verdünnung für 1 der niedrig positiven Proben erhalten.
- II. Übereinstimmung der Endpunkttiter:** Alle 6 positiven Proben ergaben die gleichen Endpunkttiter ± eine Verdünnung, unabhängig von der Charge des Reagenzienkits oder der Interpretation der Methode.

c. Referenzbereichsstudie:

Einhundertachtzig zufällige Serumproben wurden von gesunden Spendern im Nordosten der USA entnommen. Die Proben wurden mit der Screening-Verdünnung von 1:10 untersucht und mit allen drei Methoden interpretiert. Die Ergebnisse des Screening-Tests sind nachstehend zusammengefasst:

Interpretationsmethode	Anzahl der positiven	% Positive	Anzahl der Negative	% Negative	Anzahl unsicherer	% Unsicher
A	2	1.11%	178	98.89%	N/A	N/A
B	2	1.11%	178	98.89%	N/A	N/A
C	1	0.56%	176	97.78%	3	1.67%

d. Zwanzigtägige Wiederholbarkeitsstudie:

Es wurden zwei negative Serumproben, zwei niedrig positive Serumproben (Endpunkt ~ 1:10-1:20), zwei mittel positive Serumproben (Endpunkt ~ 1:40-1:80) und zwei stark positive Serumproben (Endpunkt > 1: 320) identifiziert. Diese acht Proben wurden in einer Screening-Verdünnung von 1:10 in dreifacher Ausfertigung an zwanzig verschiedenen Tagen untersucht. Qualitative Ergebnisse wurden von zwei Technikern für die Methoden A und B interpretiert, und von einem einzelnen Feininstrument für Methode C. Die Probenidentitäten wurden vor jedem Testtag unabhängig verblindet und randomisiert. Die qualitativen Ergebnisvereinbarungswerte für die methodeninterne Wiederholbarkeitsbewertung sind in den folgenden Tabellen dargestellt und auch wie folgt zusammengefasst: Bei der Interpretation über die Methoden A und B ergab sich für beide Techniker eine 100% ige methodeninterne qualitative Ergebnisvereinbarung für alle acht Proben. Bei Methode C ergaben die mittlere positive 1-Probe, die hohe positive 2-Probe und beide negativen Proben eine qualitative Ergebnisübereinstimmung von 100% innerhalb der Methode. Die niedrig positive 1-Probe, die niedrig positive 2-Probe, die mittel positive 2-Probe und die hoch positive 1-Probe ergaben innerhalb der Methode qualitative Ergebnisübereinstimmungswerte von 96,7%, 98,3%, 98,3% bzw. 95,0%. Für Proben, die weniger als 100% Übereinstimmung innerhalb der Methode ergaben, wurden alle Ergebnisse für Interpretationen der Methode C als "UNC" (unsicher) gekennzeichnet.

Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 1)

Probe	Methode A Übereinstimmung (95% KI)	Übereinstimmung nach Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Niedrig positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)

Hoch Positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Hoch Positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)

Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 2)

Probe	Methode A Übereinstimmung (95% KI)	Übereinstimmung nach Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Niedrig positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Hoch Positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Hoch Positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)

Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (n = 2 Techniker)

Probe	Endpunkttiter	Methode A Übereinstimmung (95% KI)	Übereinstimmung nach Methode B (95% KI)
Negativ-1	N/A	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Negativ-2	N/A	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Niedrig positiv-1	1:10 - 1:20	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Niedrig positiv-2	1:20 - 1:40	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Mittel positiv-1	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Mittel positiv-2	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Hoch Positiv-1	1:320 - 1:640	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Hoch Positiv-2	1:160 - 1:320	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)

Probe	Übereinstimmung nach Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	96.7% (88.6 - 99.1%)
Niedrig positiv-2	98.3% (91.1 - 99.7%)
Mittel positiv-1	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-2	98.3% (91.1 - 99.7%)
Hoch Positiv-1	95.0% (86.3 - 98.3%)
Hoch Positiv-2	100% (88.7 - 100%)
Negativ-1	100% (88.7 - 100%)
Negativ-2	100% (88.7 - 100%)

Die qualitativen Ergebnisübereinstimmungswerte für die Wiederholbarkeitsbewertung zwischen den Methoden sind in den folgenden Tabellen dargestellt und auch wie folgt zusammengefasst: Bei der Interpretation über Methode A versus Methode B ergab sich für beide Techniker eine qualitative Ergebnisübereinstimmung von 100% innerhalb der Methode für alle acht Proben. Wenn Methode A und Methode B mit Methode C verglichen wurden, ergaben die mittlere positive 1-Probe, die hohe positive 2-Probe und beide negativen Proben eine qualitative Ergebnisübereinstimmung von 100% zwischen den Methoden. Die niedrig positive 1-Probe, die niedrig positive 2-Probe, die mittel positive 2-Probe und die hoch positive 1-Probe ergaben qualitative Übereinstimmungswerte zwischen den Methoden von 96,7%, 98,3%, 98,3% bzw. 95,0%. Bei Proben, die weniger als 100% Übereinstimmung zwischen den Methoden ergaben, wurden alle Ergebnisse für Interpretationen der Methode C als "UNC" (unsicher) gekennzeichnet.

Qualitative Ergebnisvereinbarung zwischen den Methoden (Techniker 1)

Probe	Übereinstimmung zwischen Methode A und Methode B (95% KI)	Übereinstimmung zwischen Methode A und Methode C (95% KI)	Übereinstimmung zwischen Methode B und Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	100% (88.7 - 100%)	96.7% (88.6 - 99.1%)	96.7% (88.6 - 99.1%)
Niedrig positiv-2	100% (88.7 - 100%)	98.3% (91.1 - 99.7%)	98.3% (91.1 - 99.7%)
Mittel positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-2	100% (88.7 - 100%)	98.3% (91.1 - 99.7%)	98.3% (91.1 - 99.7%)
Hoch Positiv-1	100% (88.7 - 100%)	95.0% (86.3 - 98.3%)	95.0% (86.3 - 98.3%)
Hoch Positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)

Between-Method Qualitative Result Agreement (Technician 2))

Probe	Übereinstimmung zwischen Methode A und Methode B (95% KI)	Übereinstimmung zwischen Methode A und Methode C (95% KI)	Übereinstimmung zwischen Methode B und Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	100% (88.7 - 100%)	96.7% (88.6 - 99.1%)	96.7% (88.6 - 99.1%)
Niedrig positiv-2	100% (88.7 - 100%)	98.3% (91.1 - 99.7%)	98.3% (91.1 - 99.7%)
Mittel positiv-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Mittel positiv-2	100% (88.7 - 100%)	98.3% (91.1 - 99.7%)	98.3% (91.1 - 99.7%)
Hoch Positiv-1	100% (88.7 - 100%)	95.0% (86.3 - 98.3%)	95.0% (86.3 - 98.3%)
Hoch Positiv-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-1	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)
Negativ-2	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)	100% (88.7 - 100%)

Between-Method Qualitative Result Agreement (n = 2 Technicians Combined)

Probe	Endpunkttiter	Übereinstimmung zwischen Methode A und Methode B (95% KI)	Übereinstimmung zwischen Methode A und Methode C (95% KI)	Übereinstimmung zwischen Methode B und Methode C (95% KI)
Negativ-1	N/A	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Negativ-2	N/A	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Niedrig positiv-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%)
Niedrig positiv-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%)
Mittel positiv-1	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)
Mittel positiv-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%)
Hoch Positiv-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%)
Hoch Positiv-2	1:160 - 1:320	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)	120/120 = 100% (96.9 - 100%)

e. Fünftägige Reproduzierbarkeitsstudie an mehreren Standorten:

Es wurden zwei negative Serumproben, zwei niedrig positive Serumproben (Endpunkt ~ 1:10-1:20), zwei mittel positive Serumproben (Endpunkt ~ 1:40-1:80) und zwei stark positive Serumproben (Endpunkt > 1: 320) identifiziert. Diese acht Proben wurden in einer Screening-Verdünnung von 1: 10 in dreifacher Ausfertigung zweimal täglich an fünf verschiedenen Tagen in drei verschiedenen Labors untersucht. Die qualitativen Ergebnisse wurden von zwei Technikern in jedem Labor für die Methoden A und B und von

einem einzelnen Feinmessgerät in jedem Labor für die Methode C interpretiert. Die Probenidentitäten wurden vor jedem Testtag unabhängig verblindet und randomisiert.

Die Ergebnisse der qualitativen Übereinstimmung sind nachstehend dargestellt:

I. Qualitative Ergebnisvereinbarung

II. Innerhalb der Methode

Standort 1 - Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 1)

Probe	Methode A (95% KI)	Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 1 - Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 2)

Probe	Methode A (95% KI)	Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 1 - Übereinstimmung der qualitativen Ergebnisse innerhalb der Methode

Probe	Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Niedrig positiv-2	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Negativ-1	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-2	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)

Standort 2 – Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 1)

Probe	Methode A (95% KI)	Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Low Positive-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Medium Positive-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
High Positive-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negative-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 2 – Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 2)

Probe	Methode A (95% KI)	Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100%	30/30 - 100%
	(88.65 - 100.00%)	(88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Site 2 – Within-Method Qualitative Result Agreement

Probe	Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Niedrig positiv-2	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 3 – Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 1)

Probe	Methode A (95% KI)	Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 3 – Qualitative Ergebnisvereinbarung innerhalb der Methode (Techniker 2)

Probe	Methode A (95% KI)	Methode B (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 3 – Übereinstimmung der qualitativen Ergebnisse innerhalb der Methode

Probe	Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Niedrig positiv-2	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Hoch Positiv-1	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%) (88.66

B. Zwischen Methode:

Standort 1 – Qualitative Ergebnisvereinbarung zwischen den Methoden (Techniker 1)

Probe	Methode A versus Methode B (95% KI)	Methode A vs. Methode C (95% KI)	Methode B vs. Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-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 – Between-Method Qualitative Result Agreement (Technician 2)

Probe	Methode A versus Methode B (95% KI)	Methode A vs. Methode C (95% KI)	Methode B vs. Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)

Standort 2 – Qualitative Ergebnisvereinbarung zwischen den Methoden (Techniker 1)

Probe	Methode A versus Methode B (95% KI)	Methode A vs. Methode C (95% KI)	Methode B vs. Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 2 - Qualitative Ergebnisvereinbarung zwischen den Methoden (Technik)

Probe	Methode A versus Methode B (95% KI)	Methode A vs. Methode C (95% KI)	Methode B vs. Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)	28/30 - 93.33% (78.68 - 98.15%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 3 - Qualitative Ergebnisvereinbarung zwischen den Methoden (Techniker 1)

Probe	Methode A versus Methode B (95% KI)	Methode A vs. Methode C (95% KI)	Methode B vs. Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-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%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Standort 3 - Qualitative Ergebnisvereinbarung zwischen den Methoden (Techniker 2)

Probe	Methode A versus Methode B (95% KI)	Methode A vs. Methode C (95% KI)	Methode B vs. Methode C (95% KI)
Niedrig positiv-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%)
Niedrig positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Mittel positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Mittel positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)	27/30 - 90.00% (74.38 - 96.54%)
Hoch Positiv-1	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Hoch Positiv-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)
Negativ-1	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	29/30 - 96.67% (83.33 - 99.41%)
Negativ-2	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)	30/30 - 100% (88.65 - 100.00%)

Kombiniert man alle acht Proben, die zu 240 Ergebnissen führen, können die qualitativen Ergebnisse auch wie folgt zusammengefasst werden:

Methode A Reproduzierbarkeit an mehreren Standorten:

Qualitative Ergebnisse von drei Standorten und zwei Technikern pro Standort, die Standort zu Standort und Technik zu Technik vergleichen.

			Standort 1		Standort 2		Standort 3	
			Techniker 1	Techniker 2	Techniker 1	Techniker 2	Techniker 1	Techniker 2
			Methode A		Methode A		Methode A	
Standort 1	Techniker 1	Methode 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)
	Techniker 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)	
Standort 2	Techniker 1	Methode 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)
	Techniker 2				240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	
Standort 3	Techniker 1	Methode A				240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)
	Techniker 2					240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	

Methode B Reproduzierbarkeit an mehreren Standorten:

Qualitative Ergebnisse von drei Standorten und zwei Technikern pro Standort, die Standort zu Standort und Technik zu Technik vergleichen.

			Standort 1		Standort 2		Standort 3	
			Techniker 1	Techniker 2	Techniker 1	Techniker 1	Techniker 2	Techniker 1
			Methode B		Methode B		Methode B	
Standort 1	Techniker 1	Methode 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)
	Techniker 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)	
Standort 2	Techniker 1	Methode B			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)
	Techniker 2				240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	238/240 - 99.17% (97.01 - 99.77)	238/240 - 99.17% (97.01 - 99.77)	
Standort 3	Techniker 1	Methode B					240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)
	Techniker 2						240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	

Methode C Reproduzierbarkeit mehrerer Standorte Vergleich von Standort zu Standort

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

f. Interferenzstudie:

Es wurden zwei negative Serumproben, zwei niedrig positive Serumproben (Endpunkt ~ 1:10-1:20), zwei mittel positive Serumproben (Endpunkt ~ 1:40-1:80) und zwei stark positive Serumproben (Endpunkt > 1: 320) identifiziert. Diese 8 Proben wurden mit zwei verschiedenen Konzentrationen (niedriger Spike und hoher Spike) von neunzehn verschiedenen Störstoffen versetzt, wie in der folgenden Tabelle dargestellt. Alle Proben wurden in dreifacher Ausfertigung mit dem dsDNA (Crithidia I.) Kit untersucht und mit allen drei oben genannten Methoden interpretiert. Qualitative Ergebnisse wurden von zwei Technikern für die Methoden A und B und von einem einzigen göttlichen Instrument für die Methode C interpretiert.

Körpereigene Substanzen		
Substanz	Niedrige Konzentration	Hohe Konzentration
Bilirubin (unkonjugiert)	0.02 mg/mL	0.15 mg/mL
Cholesterin (gesamt)	1.5 mg/mL	2.2 mg/mL
Triglyceride (gesamt)	1 mg/mL	2.5 mg/mL
Albumin	35 mg/mL	52 mg/mL
Hämoglobin	100 mg/mL	200 mg/mL
RF	200 U/mL	400 U/mL
Körpereigene Substanzen		
Substanz	Substanz	Substanz
Intralipide	2.0 mg/mL	20 mg/mL
Cyclophosphamid	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
Vardenafil	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
Mycophenolatmofetil	0.012 mg/mL	0.048 mg/mL
Rituximab	0.5 mg/mL	2 mg/mL
Belimumab	2 mg/mL	8 mg/mL
Methotrexat	0.454 mg/mL	1.36 mg/mL
Naproxen	0.12 mg/mL	0.36 mg/mL
Enalapril	Not tested	819 ng/mL
Voclosporin	Not tested	210 ng/mL

Keine der Störstoffe beeinflusste die erwarteten Ergebnisse von Proben, wenn sie mit den Methoden A und B abgelesen wurden. Als die Kombinationen aus Störstoff und Probe getestet wurden, ergab Methode C in mehreren Proben unsichere Ergebnisse: 'niedrig negative-2'-Probe, versetzt mit einer hohen Konzentration an Cyclophosphamid, 'niedrig positive-2'-Probe, versetzt mit einer niedrigen und hohen Konzentration an Hydroxychloroquin, 'mittel positive-2'-Probe, versetzt mit einer niedrigen Konzentration an Azathioprin und einer hohen Konzentration an Bilirubin, 'hoch positive-1'-Probe, versetzt mit einer niedrigen Konzentration an triglyceride eine hohe Konzentration an Albumin. Insgesamt kann der Schluss gezogen werden, dass das dsDNA (Crithidia I.)-Kit aufgrund des Vorhandenseins der getesteten Interferenzen nicht Gefahr läuft, fehlerhafte Ergebnisse zu erzeugen.

2. Design der klinischen Leistungsstudie:

Die 660 klinisch charakterisierten Proben, die verwendet wurden, sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Diese 660 Proben wurden aliquotiert, verblindet, randomisiert und in einer Screening-Verdünnung von 1:10 über die dsDNA (Crithidia I.) in Verbindung mit dem automatisierten Mikroskopsystem diFine® in drei unabhängigen Labors ausgewertet. Die qualitativen Ergebnisse wurden von zwei Technikern in jedem Labor für die Methoden A und B und von einem einzelnen diFine®-Instrument in jedem Labor für die Methode C interpretiert. Proben, die bei den Interpretationsmethoden A und B bei der 1:10-Screening-Verdünnung positiv waren, wurden anschließend seriell verdünnt, um eine Endpunktverdünnung über alle drei Interpretationsmethoden zu bestimmen. Für jedes Labor wurden die Ergebnisse verwendet, um die klinische Spezifität (potenzielle Kreuzreaktivität), die klinische Sensitivität, die qualitative Übereinstimmung zwischen den Interpretationsmethoden und die Übereinstimmung der Endpunkttiter zwischen den Interpretationsmethoden zu bewerten.

Zielkrankheit		n	
Systemischer Lupus Erythematoses		300	
Krankheiten kontrollieren	ANA-assoziierte Erkrankungen	n	
	Bindegewebserkrankungen	Sjögren-Syndrom	30
		Sklerodermie	20
		Autoimmune Myositis	30
		Gemischte Bindegewebserkrankung	20
		CREST	20
	Andere ANA-assoziierte Autoimmunerkrankungen	Autoimmunhepatitis	20
		Primäre biliäre Cholangitis	10
		Medikamenteninduzierter Lupus	20
	Nicht-ANA-assoziierte Erkrankungen	n	
	Andere Autoimmunerkrankungen	Abdominal	20
		Vaskulitis (ANCA)	30
		Morbus Crohn	10
		Rheumatoide Arthritis	30
		Autoimmunthyreoiditis	30
Entzündliche Darmerkrankung		10	
Andere Krankheiten	Colitis Ulcerosa	10	
	Fibromyalgie	10	
	Infektionskrankheit	20	
	Malignität / Krebs	20	
Insgesamt:		660	

3. Klinische Sensitivität und klinische Spezifität:

Die klinische Sensitivität wurde an jedem Standort unter Verwendung der qualitativen Ergebnisse berechnet, die aus den Proben des systemischen Lupus Erythematoses (n = 300) abgeleitet wurden. Die Spezifität wurde aus dem kombinierten Satz qualitativer Ergebnisse berechnet, die aus den Kontrollkrankheitsproben abgeleitet wurden (n = 360).

a. Klinische Leistung an Standort 1

Diagnostische Sensitivität und Spezifität			SLE (n = 300)	Kontrollkrankheiten (n = 360)
			% Sensitivität (95% KI)	% Sensitivität (95% KI)
Standort 1	Methode A	Techniker A	26.67 (21.98 - 31.94)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Methode A	Techniker B	27.00 (22.29 - 32.29)	99.72 (98.44 - 99.95)
	Methode B	Techniker A	26.67 (21.98 - 31.94)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Methode B	Techniker B	27.00 (22.29 - 32.29)	99.44 (98.00 - 99.85)
	Methode C	dlFine	27.00 (22.29 - 32.29)	99.17 (97.58 - 99.72)

a. Klinische Leistung an Standort 2

Diagnostische Sensitivität und Spezifität			SLE (n = 300)	Control Diseases (n = 360)
			% Sensitivität (95% KI)	% Sensitivität (95% KI)
Standort 2	Methode A	Techniker A	24.33 (19.82 - 29.49)	99.72 (98.44 - 99.95)
	Methode A	Techniker B	25.00 (20.44 - 30.20)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Methode B	Techniker A	25.00 (20.44 - 30.20)	99.72 (98.44 - 99.95)
	Methode B	Techniker B	24.33 (19.82 - 29.49)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Methode C	dlFine	22.33 (17.99 - 27.38)	99.17 (97.58 - 99.72)

a. Klinische Leistung an Standort 3

Diagnostische Sensitivität und Spezifität			SLE (n = 300)	Control Diseases (n = 360)
			% Sensitivität (95% KI)	% Sensitivität (95% KI)
Standort 3	Methode A	Techniker A	25.33 (20.74 - 30.55)	98.89 (97.18 - 99.57)
	Methode A	Techniker B	25.67 (21.05 - 30.90)	99.17 (97.58 - 99.72)
	Methode B	Techniker A	25.33 (20.74 - 30.55)	97.78 (95.68 - 98.87)
	Methode B	Techniker B	25.67 (21.05 - 30.90)	97.50 (95.32 - 98.68)
	Methode C	dlFine	24.33 (19.82 - 29.49)	97.50 (95.32 - 98.68)

Die Sensitivitätswerte für die SLE-Kohorte reichten von 22,33% bis 27,0% über alle drei Methoden und alle drei Standorte hinweg. Die prozentuale Positivität, die in der SLE-Kohorte beobachtet wurde, schien niedriger als erwartet zu sein; Es stimmte jedoch mit den FDA 510k-Zusammenfassungen von ähnlichen Geräten überein. Die niedrigere prozentuale Positivität kann auf eine Vielzahl von patientenabhängigen Faktoren zum Zeitpunkt der Serumentnahme zurückzuführen sein, z. B.: Vorhandensein starker immunsuppressiver Behandlungen, geringe Krankheitsaktivität oder Krankheitsremission. Die prozentuale Positivität innerhalb dieser SLE-Kohorte wurde mit einer anderen von der FDA zugelassenen Crithidia I weiter bestätigt. anti-dsDNA-IFA-Produkt. Die klinische Spezifität in der Kohorte der Kontrollkrankheiten lag bei allen drei Methoden an allen drei Standorten zwischen 97,5% und 99,72%. Wenn man alle Interpretationsmethoden über alle drei Standorte mittelt, betrug die klinische Sensitivität in der SLE-Gruppe durchschnittlich 25,44% und die klinische Spezifität in der Kontrollkrankheitsgruppe durchschnittlich 99,06%.

4. Vergleiche der Interpretationsmethoden:

Es gab 660 klinische Proben, die an allen drei klinischen Standorten getestet wurden. In Anbetracht der Interpretationen, die an allen drei Standorten für diese 660 Proben aufgezeichnet wurden, gab es insgesamt 3.960 Fälle, in denen man die Ergebnisse von Methode A mit Methode B, Methode A mit Methode C und Methode B mit Methode C vergleichen konnte. Eine Zusammenfassung dieser qualitativen Vergleiche finden Sie in den folgenden Tabellen:

b. Qualitativer Vergleich von Methode A und Methode B

Methode A gegen Methode B		Positive Mustervereinbarung (95% KI)	Negativmustervereinbarung (95% KI)	Gesamtmustervereinbarung (95% KI)
Standort 1	Techniker 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)
	Techniker 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)
Standort 2	Techniker 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)
	Techniker 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)
Standort 3	Techniker 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)
	Techniker 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. Kombinierte qualitative Vereinbarung für Methode A vs Methode B Alle Standorte/alle Techniker

		Methode A	
		Positiv	Negativ
Methode B	Positiv	474	14
	Negativ	3	3469
Positive prozentuale Übereinstimmung =		99.37% (474/477)	95% Confidence Interval = 98.17 - 99.79%
Negative prozentuale Übereinstimmung =		99.60% (3469/3483)	95% Confidence Interval = 99.33 - 99.76%
Gesamtübereinstimmung in Prozent =		99.57% (3943/3960)	95% Confidence Interval = 99.31 - 99.73%

c. Qualitativer Vergleich von Methode A und Methode C

Für Vergleiche zwischen Methode A und Methode C wurden diese zweimal berechnet; einmal unter der Annahme, dass alle Ergebnisse der Methode C, die UNC waren, als "negativ" betrachtet wurden, und einmal unter der Annahme, dass alle Ergebnisse der Methode C, die UNC waren, als positiv betrachtet wurden.

Methode gegen Methode c (unc = neg)		Positive Mustervereinbarung (95% KI)	Negativmustervereinbarung (95% KI)	Gesamtmustervereinbarung (95% KI)
Standort 1	Techniker 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)
	Techniker 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)
Standort 2	Techniker A	68/74, 91.89% (83.42 - 96.23)	585/586, 99.83% (99.04 - 99.97)	653/660, 98.94% (97.83 - 99.49)
	Techniker B	69/78, 88.46% (79.50 - 93.81)	582/582, 100.00% (99.34 - 100.00)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
Standort 3	Techniker A	77/80, 96.25% (89.55 - 98.72)	580/580, 100.00% (99.34 - 100.00)	657/660, 99.55% (98.67 - 99.86)
	Techniker 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)

Methode gegen Methode c (unc = POS)		Positive Mustervereinbarung (95% KI)	Negativmustervereinbarung (95% KI)	Gesamtmustervereinbarung (95% KI)
Standort 1	Techniker 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)
	Techniker B	79/83, 95.18% (88.25 - 98.11)	567/578, 98.10% (96.63 - 98.93)	646/660, 97.88% (96.47 - 98.73)
Standort 2	Techniker A	73/74, 98.65% (92.73 - 99.76)	577/586, 98.46% (97.11 - 99.19)	650/660, 98.48% (97.23 - 99.17)
	Techniker B	76/78, 97.44% (91.13 - 99.29)	576/582, 98.97% (97.77 - 99.53)	652/660, 98.79% (97.63 - 99.38)
Standort 3	Techniker A	78/80, 97.50% (91.34 - 99.31)	571/580, 98.45% (97.08 - 99.18)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
	Techniker B	77/80, 96.25% (89.55 - 98.72)	570/580, 98.28% (96.86 - 99.06)	647/660, 98.03% (96.66 - 98.85)

d. Kombinierte qualitative Vereinbarung für Methode A vs Methode C Alle Standorte/alle Techniker

		Methode A	
		Positiv	Negativ
Methode gegen Methode c (unc = neg)	474	14	14
	3	3469	3469

Positive prozentuale Übereinstimmung = 93.50% (446/477) 95 %-Konfidenzintervall = 90.92 - 95.38%
 Negative prozentuale Übereinstimmung = 99.60% (3469/3483) 95 %-Konfidenzintervall = 99.33 - 99.76%
 Prozentuale Gesamtübereinstimmung = 98.31% (3893/3960) 95 %-Konfidenzintervall = 97.86 - 98.66%

		Methode A	
		Positiv	Negativ
Methode gegen Methode c (unc = POS)	Positiv	464	54
	Negativ	13	3429

Positive prozentuale Übereinstimmung = 97.27% (464/477) 95 %-Konfidenzintervall = 95.39 - 98.40%
 Negative prozentuale Übereinstimmung = 98.45% (3429/3483) 95 %-Konfidenzintervall = 97.98 - 98.81%
 Prozentuale Gesamtübereinstimmung = 98.31% (3893/3960) 95 %-Konfidenzintervall = 97.86 - 98.66%

e. Qualitativer Vergleich von Methode B und Methode C

Für Vergleiche zwischen Methode B und Methode C wurden diese zweimal berechnet; einmal unter der Annahme, dass alle Ergebnisse der Methode C, die UNC waren, als "negativ" betrachtet wurden, und einmal unter der Annahme, dass alle Ergebnisse der Methode C, die UNC waren, als positiv betrachtet wurden.

Methode gegen Methode c (unc = neg)		Positive Mustervereinbarung (95% KI)	Negativmustervereinbarung (95% KI)	Gesamtmustervereinbarung (95% KI)
Standort 1	Techniker 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)
	Technician 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)
Standort 2	Techniker 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)
	Technician 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)
Standort 3	Techniker 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)
	Technician 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)

Methode gegen Methode c (unc = POS)		Positive Mustervereinbarung (95% KI)	Negativmustervereinbarung (95% KI)	Gesamtmustervereinbarung (95% KI)
Standort 1	Techniker 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)
	Technician B	80/83, 96.39% (89.90 - 98.76)	567/577, 98.27% (96.84 - 99.06)	647/660, 98.03% (96.66 - 98.85)
Standort 2	Techniker 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)
	Technician 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)
Standort 3	Techniker 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)
	Technician 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. Kombinierte qualitative Vereinbarung für Methode B vs Methode C Alle Standorte/alle Techniker

		Methode B	
		Positiv	Negativ
Methode gegen Methode c (unc = neg)	Positiv	448	12
	Negativ	40	3460

Positive prozentuale Übereinstimmung = 91.80% (448/488) 95 %-Konfidenzintervall = 89.03 - 93.92%
 Negative prozentuale Übereinstimmung = 99.65% (3460/3472) 95 %-Konfidenzintervall = 99.40 - 99.80%
 Prozentuale Gesamtübereinstimmung = 98.69% (3908/3960) 95 %-Konfidenzintervall = 98.28 - 99.00%

		Methode B	
		Positiv	Negativ
Methode gegen Methode c (unc = POS)	Positiv	473	45
	Negativ	15	3427

Positive prozentuale Übereinstimmung = 96.93% (473/488) 95 %-Konfidenzintervall = 94.99 - 98.13%
 Negative prozentuale Übereinstimmung = 98.70% (3427/3472) 95 %-Konfidenzintervall = 98.27 - 99.03%
 Prozentuale Gesamtübereinstimmung = 98.48% (3900/3960) 95 %-Konfidenzintervall = 98.06 - 98.82%

In allen Fällen ist die qualitative Übereinstimmung zwischen den Interpretationsmethoden recht hoch, was darauf hinweist, dass alle drei Methoden (manuelles Mikroskop, digitales Lesen des dIFine® und automatisierter Aufruf vom dIFine®) gut miteinander korrelieren und nur wenige Diskrepanzen aufweisen.

Insgesamt zeigen diese Daten, dass der von dIFine® identifizierte Autoaufruf (Methode C) für die überwiegende Mehrheit der Proben mit Methode A und/oder Methode B (nicht automatisierte Identifizierungsmethoden) übereinstimmt. Es liegt jedoch immer noch in der Verantwortung des geschulten Bedieners, die endgültige Entscheidung zu treffen.

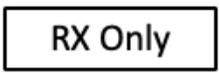
VERWEISE

1. Robbins WC, Holman HR, Deicher HRG, et al: Proc. Soc. Verw. bis. Biol. Mit. 96:575, 1957.
2. Seligman M: Cr. Akad. Sci. (Paris), 245:243, 1957.
3. Ceppellini R, Polli E, Celada F: Proc. Soc. Verw. bis. Biol. Mit. 96:572, 1957.
4. Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG: J. Ausg. Mit. 109:97, 1959.
5. Dubois EL: J. Rheumatol. 2:204, 1975.
6. In: J. Rheumatol. 2:215, 1975.
7. Blomgren SE: Seminare Gesundheit. 10:345, 1973.
8. Alarcon-Segovia D, Fischbein E: J. Rheumatol. 2:167, 1975.
9. Klajman A, Farkas R, Gold E, Ben-Efraim S: Clin. In: Immunol. Immunopath. 3:525, 1975.
10. Pincus T, Schur PH, Rose JA: N. Engl. In: J. Med. 281:701, 1969.
11. Koffler D, Carr RI, Agnello V, et al: Wissenschaft 166: 1648, 1969.
12. Gershwin ich, Steinberg ANZEIGE: Arthritis. Rheum. 17:947, 1974.
13. Casals SP, Friou GJ, Myers LI: Arthritis. Rheum. 7:379, 1964.
14. Arana R, Seligmann M: J. Clin. Investieren. 46:1867, 1967.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RI, et al: J. Clin. Investieren. 45:1732, 1966.
16. Stollar D, Levine L, Leher HALLO, et al: Proc. In: Nat'l. Acad. Sci. Vereinigte STAATEN 48: 874, 1962.
17. Bosicevich J, Nasou JP, Kayhoe DE: Verfahren. Soc. Verw. bis. Biol. Mit. 103:636, 1960.
18. Jokinen EJ, Julkunen H: Ann. Rheum.Dis. 24:477, 1965.
19. Matrer R, Helgeland SM, Tonder O: J. Immunol. Methoden 5: 345, 1974.
20. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: Clin. Verw. bis. In: Immunol. 3:641, 1968.
21. Davis JS, IV: Arthritis. Rheum. 14:377, 1971.
22. Johnson GD, Edmonds JP, Holbrow EJ: Lanzette 2: 883, 1973.
23. Wold RT, Junge FE, Tan EM, et al: Wissenschaft 161: 806, 1968.

24. Farr Rd: J. Infizieren. Dis. 103:239, 1958.
25. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG: J. Ausg. Mit. 126:607, 1967.
26. Harbeck RJ, Bardana EJ, Kohler PF, et al: J. Clin. Investieren. 52:789, 1973.
27. Cohen SA, Hughes GRV, Noel GL, et al: Clin. Verw. bis. In: Immunol. 8:551, 1971.
28. Natali PG, Tan EM: J. Clin. Investieren. 51:345, 1972.
29. Aarden LA, DeGroot ÄH, Feltkamp EW: Ann. IN: NY Acad. Sci. 254:505, 1975.
30. Slater NGP, Cameron JS und Lessof MH: Clin. Verw. bis. In: Immunol. 25:480, 1976.
31. Stingl G, Meingassner JG, Swelty P, et al: Clin. In: Immunol. Immunopath. 6:131, 1976.
32. Davis P, Christian B und Russel ALS: J. Rheumatol. 4:15, 1977.
33. Tourville DR und Benn V: Mikrobiologisches Verfahren, 1977.
34. Verfahren zur Entnahme diagnostischer Blutproben durch Venenpunktion. Zweite Auflage: Approved Standard (1984). Herausgegeben vom Nationalen Komitee für klinische Laborstandards.
35. Verfahren für die Handhabung und Verarbeitung von Blutproben. NCCLS Dokument H18-A, Bd. 10, Nr. 12, Genehmigte Richtlinie, 1990.
36. US-Arbeitsministerium, Arbeitsschutzbehörde: Berufliche Exposition gegenüber durch Blut übertragenen Krankheitserregern, endgültige Regel. FBI. Register 56:64175-64182, 1991.
37. Verfahren für die Handhabung und Verarbeitung von Blutproben für gängige Labortests; Genehmigte Richtlinien – 4. Ausgabe (2010). CLSI-Dokument GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Institut für klinische und Laborstandards, 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. Anti-doppelsträngige DNA-Antikörper: Ein rationaler diagnostischer Ansatz in Umgebungen mit begrenzten Ressourcen. In: Pract Lab Med. 2022 Juni 3;31: e00285. doi: 10.1016/j.plabm.2022.e-00285. PMID: 35711387; PMCID: PMC9192786.
39. Pan N, Freunde I, Lyman S, Duculan R, Aziz F, Krähe MK, Kirou KA. Ein Anstieg des Anti-dsDNA-Titers sagt einen schweren Lupus-Schub innerhalb von sechs Monaten voraus. Lupus. 2014 März;23(3): 293-8. doi-Nummer: 10.1177/0961203313515763. Epub 2013 Dezember 6. PMID: 24316605.
40. Swaak AJ, Groenwold J, Aarden LA, Statistik von Eps LW, Feltkamp EW. Prognostischer Wert von Anti-dsDNA bei SLE. In: Ann Rheum Dis. August 1982;41(4):388-95. geburtsdatum: 10.1136/ard.41.4.388. PMID: 6981385; PMCID: PMC1000956.

GLOSSAR DER SYMBOLE

Bei der Kennzeichnung dieses Produkts wurden möglicherweise die folgenden Symbole verwendet.

Symbol	Beschreibung	Symbol	Beschreibung
	Hersteller		Von Sonnenlicht fernhalten
	In-vitro-Diagnostika		Übereinstimmung mit der Richtlinie 98/79
	Katalognummer		Abdeckglas
	Ausreichend für n Tests		Substratschlitten
	Chargencode		PBS-Puffer
	Verwendung durch		Eindeckmedien
	Einschränkungen der Lagertemperatur		Konjugieren
	Nur für verschreibungspflichtige Zwecke		Positivkontrolle
	Elektronische Gebrauchsanweisung konsultieren		Negativkontrolle
	In aufrechter Position aufbewahren		Hergestellt in den USA



ZEUS Scientific.

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876,
Vereinigte Staaten von Amerika
Gebührenfrei (USA): 1-800-286-2111, Option 2
Ausland: +1 908-526-3744
Telefax: +1 908-526-2058
Website: www.zeusscientific.com

Für den Kundendienst in den USA wenden Sie sich an Ihren örtlichen Händler.

Für technischen Support in den USA wenden Sie sich an ZEUS Scientific, rufen Sie gebührenfrei an oder senden Sie eine E-Mail support@zeusscientific.com

Für Anfragen zu Kundendienst und technischem Support außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Händler.

© 2019 ZEUS Scientific. Alle Rechte vorbehalten.



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands