



CS

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (Na Ethanolu fixované)

REF

FA9601-1010

IVD

Rx Only



URČENÉ POUŽITÍ

Testovací systém pro detekci protilátek proti cytoplasmě neutrofilů (na ethanolu fixované) je nepřímý imunofluorescenční test (IFA) určený pro kvalitativní a semikvantitativní stanovení protilátek proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) izotypu IgG v lidském séru pomocí ruční fluorescenční mikroskopie nebo systému dIFine®. Přítomnost ANCA v kombinaci s dalšími klinickými a laboratorními nálezy může napomoci při diagnostice vaskulitid asociovaných s ANCA (AAV). Všechny výsledky získané pomocí systému dIFine® musí být potvrzeny školeným pracovníkem.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) jsou autoprotiilátky zaměřené proti antigenům uvnitř cytoplazmy neutrofilů a jsou spojeny se skupinou vzácných onemocnění známých jako vaskulitidy asociované s ANCA (AAV).^{1 2} ANCA jsou převážně namířeny proti dvěma proteinům – myeloperoxidáze (MPO) a proteináze 3 (PR3) – které se nacházejí v cytoplazmatických granulech neutrofilů; avšak byly popsány i další antigeny, například elastáza, katepsin G a laktoferin.³ MPO a PR3 vykazují in vivo enzymatickou aktivitu a hrají důležitou roli v obraně vrozeného imunitního systému proti patogenům – například při produkci kyseliny chlorové, antimikrobiálních peptidů a prozánětlivých cytokinů.^{2 3} Při testování vzorků pacientů s AAV pomocí ANCA IFA preparátů fixovaných ethanolem se obvykle objevují dva různé fluorescenční vzory, v závislosti na tom, zda jsou autoprotiilátky namířeny proti PR3 nebo MPO.^{4 5 6} Protilátky proti MPO obvykle způsobují perinukleární fluorescenční vzor (p-ANCA), zatímco protilátky proti PR3 vyvolávají cytoplazmatický fluorescenční vzor (c-ANCA).⁷ Vzorky vykazující p-ANCA vzor jsou typicky spojovány s AAV onemocněními, jako je mikroskopická polyangiitida (MPA) a eozinofilní granulomatóza s polyangiitidou (eGPA).⁷ Naopak vzorky s c-ANCA vzorem bývají obvykle spojovány s granulomatózou s polyangiitidou (GPA), dříve známou jako Wegenerova granulomatóza.⁷ Vzory fluorescencí napodobující p-ANCA nebo atypické vzory se mohou rovněž objevit v důsledku přítomnosti antinukleárních protilátek (ANA) nebo jiných zkříženě reagujících protilátek, které se někdy vyskytují v séru pacientů s ne-AAV autoimunitními nebo zánětlivými onemocněními, jako je systémový lupus erythematosus (SLE), idiopatické střevní záněty (IBD) a revmatoidní artritida (RA).⁷⁻¹⁰ Z tohoto důvodu by sérové vzorky vykazující p-ANCA vzor na ethanolu fixovaných preparátech měly být dále vyšetřeny pomocí dalších sérologických metod, jako jsou ANCA IFA na formalinem fixovaných preparátech, testy s pevnou fází na MPO/PR3 a testy pro detekci ANA, aby se rozlišily skutečně pozitivní výsledky od falešně pozitivních.^{7 8}

PRINCIP TESTU

Testovací systém Sebia ANCA (fixovaný ethanolu) metodou IFA je navržen k detekci přítomnosti ANCA v lidském séru. Test využívá substrát z lidských granulocytů fixovaných ethanolu, optimalizovaný koží anti-lidský IgG konjugát s fluorescein-isothiokyanátem (FITC) a promývací roztok. Reakce probíhá ve dvou krocích:

1. Krok jedna je inkubace vzorku, během které se ANCA přítomné ve vzorku pacienta mohou navázat na buněčný substrát a vytvořit antigen-protilátkový komplex. Ostatní složky séra jsou následně odplaveny.
2. Krok dva je inkubace s konjugátem, během níž anti-lidský IgG FITC konjugát reaguje s jakýmkoli lidským IgG navázaným na substrát během inkubace vzorku. Tím se vytvoří stabilní antigen-protilátka-konjugát komplex v místě, kde se původní protilátka pacienta navázala na buněčný substrát. Přebytečný konjugát je následně odplaven. Výsledky testu lze vizualizovat pomocí vhodně vybaveného fluorescenčního mikroskopu nebo systému dIFine®. Jakákoli pozitivní reakce se projeví jako jablkově zelené fluorescenční zbarvení uvnitř buňky. Pokud vzorek neobsahuje ANCA, nebude pozorováno žádné výrazné jaderné ani cytoplazmatické zbarvení buňky.

REAGENČNÍ

Poskytnuté materiály:

Každý testovací systém obsahuje následující komponenty v množství postačujícím k provedení počtu testů uvedeného na obalu. **POZNÁMKA: Konjugát a kontrolní vzorky obsahují kombinaci Proclinu (0.05 % obj.) a azidu sodného (<0.1 % hm.) jako konzervační látky.**

SLD	ANCA substrátové podložky: Deset podložek s 10 jamkami, s absorpčním blottrem a sáčkem s vysoušedlem.
CONJ	Konjugát: Kozí anti-lidské IgG značené FITC. Obsahuje fosfátový pufr s BSA a kontrastním barvivem. Dvě jantarové lahvičky, každá obsahuje 3 ml. Připraveno k použití.
CTRL +	c-ANCA pozitivní kontrola: Obsahuje lidské sérum pozitivní na c-ANCA spolu s konzervačními látkami. Jedna mikrozkušavka s červeným víčkem. 0.5 ml, připraveno k použití.
CTRL +	p-ANCA pozitivní kontrola: Obsahuje lidské sérum pozitivní na p-ANCA spolu s konzervačními látkami. Jedna mikrozkušavka s oranžovým víčkem. 0.5 ml, připraveno k použití.
CTRL -	Negativní kontrola: Obsahuje lidské sérum negativní na ANCA spolu s konzervačními látkami. Jedna mikrozkušavka se zeleným víčkem. 0.5 ml, připraveno k použití.
COVGLS	Krycí skříčko. Balení obsahuje dvanáct kusů, 24 x 60 mm, tloušťka č. 1.
BUF PBS	Fosfátový pufr (PBS): pH 7.2 ± 0.2. Obsah každého sáčku s pufrém vysypte do jednoho litru destilované nebo deionizované vody. Míchejte, dokud se všechny soli úplně nerozpustí. Dva sáčky, dostatečné pro přípravu 2 litrů.
MNTMED	Montážní médium (pufrovaný glycerol): Dvě lahvičky s bílým víčkem a kapátkem, každá o objemu 3 mL. Připraveno k použití.

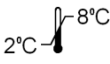
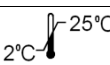
Poznámky:

Následující komponenty nejsou závislé na čísle šarže testovací sady a mohou být použity zaměnitelně s produkty Sebia IFA, pokud jsou čísla produktů totožná: Montážní médium (č. produktu: FA0009S), Negativní kontrola (FA2005-IUNC), Krycí skříčko (č. produktu: S8007), PBS (pufrovaný solný roztok, č. produktu: 0008S)

MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE NEPOSKYTNUTÝ

1. Přístroj diFine® nebo vhodně vybavený fluorescenční mikroskop.
2. Pipet(a) schopná dávkovat objemy mezi 10 a 200 µL.
3. Jednorázové pipetovací špičky.
4. Malé zkumavky, ředící destička nebo obdobný materiál pro přípravu ředění vzorků.
5. Přístroj na promývání sklíček nebo velká barvicí vanička s magnetickou míchačkou pro promývání sklíček mezi inkubačními kroky.
6. Destilovaná nebo deionizovaná voda.
7. Odměrný válec o objemu 1 litr.
8. Laboratorní časovač pro sledování inkubačních kroků.
9. Odkapávací nádoba a dezinfekční prostředek (např. 10% běžné domácí bělidlo – 0,5% chlornan sodný).

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

	Neotevřený testovací systém je stabilní až do data expirace uvedeného na označení specifickém pro šarži.
	Po prvním otevření bylo prokázáno, že montážní médium, konjugát, pozitivní kontroly a negativní kontrola jsou stabilní až po dobu 15 měsíců.
	Bylo prokázáno, že rehydratovaný PBS je stabilní až po dobu 30 dnů.
	Neotevřené balíčky s fosfátovým pufrém (PBS) jsou stabilní do data expirace uvedeného na označení konkrétní šarže.

UPOZORNĚNÍ

1. Pouze pro diagnostiku *in vitro*.
2. Toto zařízení je určeno k použití vyškoleným pracovníkem ve zdravotnické laboratoři.
3. Veškeré výsledky získané pomocí softwaru musí být potvrzeny vyškoleným operátorem.
4. Při práci s laboratorními reagensii dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Při zasažení očí okamžitě vypláchněte dostatečným množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodný ochranný oděv, rukavice a ochranu očí/obličje. Nevdechujte výpary. Likvidujte odpad v souladu s místními, státními a federálními předpisy.
5. Jamky na sklíčku neobsahují životaschopné buňky. Přesto s nimi zacházejte jako s **potenciálně biologicky nebezpečným materiálem**.
6. Kontrolní vzorky jsou potenciálně biologicky nebezpečné. Zdrojové materiály, ze kterých tyto produkty pocházejí, byly testovány schválenými metodami a shledány negativními na antigen HIV-1, HBsAg a protilátky proti HCV a HIV. Přestože žádná testovací metoda nemůže zaručit úplnou nepřítomnost infekčních agens, měly by být tyto produkty zpracovávány na úrovni biologické bezpečnosti 2, jak doporučuje příručka CDC/NIH „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (aktuální vydání) a standard OSHA pro krevně přenosné patogeny(11).
7. Přesné dodržení stanoveného času a teploty inkubací je nezbytné pro správné výsledky. **Všechny reagensie musí dosáhnout laboratorní teploty (20–25 °C) před zahájením testu.** Nepoužité reagensie okamžitě vraťte do původních nádob a dodržujte podmínky skladování.
8. Nedostatečné promytí může vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům. Před přidáním konjugátu minimalizujte zbytkové množství PBS odsátím. Nenechte jamky mezi inkubacemi vyschnout.
9. Konjugát a kontrolní vzorky obsahují azid sodný v koncentraci <0.1 % (hm.). Azid sodný může tvořit v laboratorním odpadu azidy olova nebo mědi, které mohou explodovat při mechanickém nárazu. Aby se tomu zabránilo, důkladně oplachujte umyvadlo vodou po vylití roztoků obsahujících azid sodný. Tento konzervant může být toxický při požití.
10. Ředění nebo úprava reagensií může způsobit chybné výsledky.
11. Nikdy nepipetujte ústy. Vyhněte se kontaktu reagensií a vzorků pacientů s kůží a sliznicemi.
12. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagensií. Může způsobit chybné výsledky.
13. Křížová kontaminace reagensií a/nebo vzorků může vést k nesprávným výsledkům.
14. Opakovaně použitelné sklo musí být důkladně omyto a zbaveno veškerých zbytků detergentů.
15. Vyhněte se rozstřiku a tvorbě aerosolů.
16. Nevystavujte reagensie intenzivnímu světlu během skladování ani během inkubací.
17. Před otevřením ochranného obalu nechte balení se sklíčky aklimatizovat na laboratorní teplotu, abyste předešli kondenzaci na jamkách nebo podložce.
18. Zachytávejte promývací roztok do sběrné nádoby a zneškodněte jej dezinfekcí (např. 10% domácí bělidlo – 0.5% chlornan sodný). Vyhněte se vystavení reagensií výparům z bělidla.
19. Nevystavujte žádné reaktivní reagensie roztokům obsahujícím bělidlo ani jejich výparům. I stopová množství chlornanu sodného mohou zničit biologickou aktivitu mnoha reaktivních složek tohoto testovacího systému.
20. Na obal sklíčka nevyvíjejte tlak – mohlo by dojít k poškození substrátu.
21. Komponenty tohoto testovacího systému jsou sladěny pro optimální citlivost a reprodukovatelnost. Reagensie od jiných výrobců by se neměly zaměňovat. Pečlivě dodržujte návod k použití.
22. Protilátková kontrabarva Evansova modř je potenciální karcinogen. Při kontaktu s pokožkou opláchněte vodou. Likvidujte v souladu s místními předpisy.

ODBĚR VZORKU

1. Doporučuje se, aby uživatel prováděl odběr vzorku v souladu s dokumentem CLSI M29: *Ochrana laboratorních pracovníků před infekčními nemocemi získanými při výkonu povolání*. Žádná známá testovací metoda nemůže zaručit, že vzorky lidské krve nepřenášejí infekci. Proto by všechny deriváty krve měly být považovány za potenciálně infekční.
2. Pro tento test se mají používat pouze čerstvě odebraná a správně uchovávaná séra získaná schváleným aseptickým postupem venepunkce (12, 13). Do vzorku se nesmí přidávat antikoagulanty ani konzervační látky. Vyhněte se použití hemolytických, lipemických nebo bakteriálně kontaminovaných sér.
3. Doporučuje se, aby sérum nebylo uchováváno při laboratorní teplotě déle než 8 hodin. Pokud se testování neprovede do 8 hodin, doporučuje se uchovávat sérum při teplotě 2–8 °C po dobu maximálně 48 hodin. Pokud se

předpokládá delší prodleva v testování, uchovávejte sérum při -20°C nebo nižší teplotě. Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování, protože to může vést ke ztrátě aktivity protilátek. Nicméně interní studie s použitím testovacího systému Sebia ANCA (fixovaný ethanol, IFA) prokázaly, že séra pozitivní i negativní na ANCA jsou stabilní až 14 dní při teplotě $2-8^{\circ}\text{C}$ nebo při pokojové teplotě. Další interní studie ukázaly, že sérum zůstává stabilní i po minimálně 4 cyklech zmrazení/rozmrazení. Každá laboratoř však nese odpovědnost za to, že stanoví vlastní kritéria stability vzorků na základě dostupné literatury a/nebo vlastních interních studií (14).

POSTUP TESTU

1. Vyjměte sklíčka a další komponenty sady z chladicího úložiště a nechte je zahřát na laboratorní teplotu ($20-25^{\circ}\text{C}$). Opatrně roztrhněte ochranný obal a vyjměte sklíčka. **Nevyvíjejte tlak na ploché strany obalu.**
2. Připravte ředění séra pacienta v poměru 1:20 (např. $10\ \mu\text{L}$ séra + $190\ \mu\text{L}$ PBS pufru). Při titraci vzorků pacienta připravujte počáteční ředění 1:20 a všechna další ředění pomocí $1\times$ PBS. **POZNÁMKA: Kontrolní vzorky se používají neředěné.**
3. Pomocí vhodného dávkovače aplikujte $30\ \mu\text{L}$ každého kontrolního vzorku a každého ředěného séra pacienta do příslušné jamky.
4. Inkubujte sklíčka při laboratorní teplotě ($20-25^{\circ}\text{C}$) po dobu 35 ± 5 minut.
5. Opatrně opláchněte sklíčka PBS puforem. Pokud provádíte oplach ručně, **nesměřujte proud PBS přímo do jamek.**
6. Promývejte sklíčka ve dvou intervalech po 5 minutách, přičemž mezi oplachy vyměňte PBS.
7. Vyjímajte sklíčka z PBS jedno po druhém. Otočte sklíčko a zarovnejte jamky s otvory v dodaném absorpčním podkladu. Odsajte PBS ze sklíčka otřením jeho zadní strany absorpčním papírem. **UPOZORNĚNÍ:** Umístěte podložku a sklíčko na tvrdý, rovný povrch. Blotování na papírových utěrkách může zničit matici sklíčka. **Nenechte sklíčka během testování vyschnout.**
8. Přidejte $30\ \mu\text{L}$ konjugátu do každé jamky.
9. Zopakujte kroky 4 až 7.
10. Naneste 4–5 kapek montážního média na sklíčko.
11. Přiložte krycí sklíčko. Vyhodnoťte vzorek pod fluorescenčním mikroskopem.

KONTROLA KVALITY

1. U každé série testovaných sklíček musí být zahrnuty následující kontrolní vzorky: p-ANCA pozitivní kontrola, c-ANCA pozitivní kontrola, negativní kontrola.
2. Doporučuje se nejprve vyhodnotit kontrolní vzorky před interpretací vzorků pacientů. Pokud kontrolní vzorky nevykazují níže popsané charakteristiky, jsou výsledky neplatné:
 - a. Negativní kontrola – vyznačuje se absencí specifické fluorescence a přítomností červeného nebo matně zeleného zbarvení všech buněk způsobeného kontrabarvením.
 - b. p-ANCA pozitivní kontrola – vyznačuje se jaderným nebo perinukleárním fluorescenčním vzorem (p-ANCA) s jablkově zelenou fluorescencí.
 - c. c-ANCA pozitivní kontrola – vyznačuje se cytoplazmatickým fluorescenčním vzorem (c-ANCA) s jablkově zelenou fluorescencí.
3. Další kontrolní vzorky mohou být testovány podle požadavků místních, státních a/nebo federálních předpisů nebo podle požadavků akreditačních organizací.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

1. Negativní: Vyznačuje se absencí specifické fluorescence a červeným nebo matně zeleným pozadím všech buněk způsobeným kontrabarvením.
2. p-ANCA pozitivní: Vyznačuje se jaderným nebo perinukleárním vzorem barvení s jablkově zelenou fluorescencí.
3. c-ANCA pozitivní: Vyznačuje se cytoplazmatickým vzorem barvení s jablkově zelenou fluorescencí.
4. Atypicky pozitivní: Vyznačuje se kombinací jaderného a cytoplazmatického barvení, zdůrazněným nebo lineárním perinukleárním barvením, nebo jinými vzory barvení, které nelze jednoznačně zařadit jako čistě c-ANCA nebo p-ANCA, přičemž je přítomna jablkově zelená fluorescence.

OMEZENÍ TESTU

1. Testovací systém ANCA (fixovaný ethanol, IFA) slouží jako pomůcka při diagnostice. Výsledky musí být interpretovány ve spojení s dalšími doporučenými sérologickými testy ANCA, testy ANA a s klinickými příznaky pacienta kvalifikovaným zdravotnickým pracovníkem.

2. Vzorky pozitivní na ANA mohou reagovat s ethanolem fixovanými ANCA IFA skříčky a vést k pozitivním výsledkům s atypickými vzory barvení nebo s barvením napodobujícím p-ANCA.
3. Jiné typy vzorků než sérum nebyly pro tento testovací systém validovány.
4. Všechny výsledky získané pomocí systému dIFine® musí být potvrzeny vyškoleným operátorem.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

U běžné populace se očekává negativní výsledek při počátečním ředění 1:20. Nicméně vzorky obsahující antinukleární protilátky (ANA) mohou i u zdravé populace vést k falešně pozitivním výsledkům.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

POZNÁMKA: Při stanovování výkonnostních charakteristik testovacího systému ANCA fixovaný ethanolem, IFA byly skříčka interpretována pomocí tří různých metod, jak je uvedeno níže:

Metoda interpretace:
Metoda A. Metoda A byla zcela manuální interpretační metoda. Byla prováděna pomocí tradičního fluorescenčního mikroskopu vybaveného objektivem a okuláry. Určení kvalitativního výsledku prováděli vyškolení laboratorní technici.
Metoda B. Metoda B byla prováděna skenováním preparátů pomocí systému dIFine® a následnou interpretací kvalitativních výsledků vyškoleným laboratorním technikem pomocí digitálního obrazu zobrazeného na monitoru počítače.
Metoda C. Metoda C je navrhovaný výsledek předpovězený systémem dIFine®; Metoda C předpovídá kvalitativní a vzorové výsledky. Pokud je výsledek Metoda C označen jako „UNC“ (nejistý), znamená to, že úroveň fluorescence měřená systémem dIFine je na hranici mezi pozitivním a negativním výsledkem, nebo existují jiné vlastnosti v jamce preparátu, které zabránily jednoznačnému určení. Vzory výsledků navržené systémem dIFine jsou p-ANCA, c-ANCA nebo „Jiné“. Metoda C musí být „ověřena“ nebo přijata laboratorním technikem, případně upravena nebo úplně zamítnuta. Pro účely této studie a níže uvedených dat je Metoda C zaznamenávána „jak je“ bez jakýchkoli úprav ze strany laboratorních techniků. Je tedy prezentována pouze pro informativní účely.

1. Analytické Studie Výkonnosti:

a. Linearita:

Bylo sestaveno následujících šest vzorků: dva slabě pozitivní vzorky (~koncové ředění 1:20–1:40); jeden obsahující anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~koncové ředění 1:80–1:160); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Těchto šest vzorků bylo testováno při počátečním ředění 1:20 a také při různých sériových ředěních. Kvalitativní výsledky a vzory fluorescenčního barvení byly interpretovány všemi třemi výše uvedenými metodami. Koncové titry pro každý vzorek a každou metodu jsou uvedeny níže.:

Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	1:40	1:40	1:40
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	1:40	1:40	1:80
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	1:80	1:160	1:160
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	1:1280	1:2560	1:2560
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	1:640	1:640	1:640

***Vzorky označené jako UNC jsou započítány jako negativní.**

Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	1:40	1:40	1:40
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	1:40	1:40	1:160
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	1:80	1:160	1:320
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	1:1280	1:2560	1:5120
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	1:640	1:640	1:640

****Vzorky UNC započítány jako pozitivní.**

Pro metoda A a B byla intenzita fluorescence zaznamenána při každém ředění pomocí stupnice, kde hodnota 4 znamená velmi intenzivní fluorescenci a hodnota 0 znamená žádnou fluorescenci. Ředění vzorků a příslušné intenzity fluorescence jsou shrnuty v tabulkách uvedených níže:

Intenzita Fluorescence (4+ až 0) – Metoda A										
Vzorek	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	2+	1+	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	2+	1+	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	3+	2+	1+	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	3+	2+	1+	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0	0

NT = Netestováno

Intenzita Fluorescence (4+ až 0) – Metoda B										
Vzorek	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	2+	1+	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	2+	1+	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	3+	2+	1+	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	4+	3+	2+	1+	0	NT	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0	0

NT = Netestováno

b. Reprodukovatelnost mezi šaržemi:

Bylo sestaveno následujících deset vzorků séra: Dva nízce pozitivní vzorky (~1:20–1:40 konečné ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 konečné ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 konečné ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a dále čtyři negativní vzorky. Všech deset vzorků bylo testováno při počátečním ředění 1:20 pomocí tří různých šarží testovacího systému ANCA s fixací etanolem pro IFA. Šest pozitivních vzorků bylo také sériově ředěno a testováno pomocí těchto tří šarží stejného testovacího systému. Jamky na podložních sklech byly interpretovány všemi třemi výše uvedenými metodami. Výsledky ředěných pozitivních vzorků a 4 negativních vzorků tvořily celkem 44 jamek, které byly použity pro analýzu shody kvalitativních výsledků. Analýza shody vzorů byla provedena pro jamky, kde došlo k pozitivní shodě. U sériově ředěných vzorků byla rovněž stanovena konečná ředění.

Výsledky:

i. Kvalitativní sho:

Kvalitativní shoda – v rámci šarže						
Metoda Interpretace	Šarže1		Šarže 2		Šarže3	
	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI
A vs B	100.00 (44/44)	91.97–100.00	97.73 (43/44)	88.19–99.60	95.45 (42/44)	84.87–98.74
A vs C	86.36 (38/44)	73.29–93.60	79.55 (35/44)	65.50–88.85	77.27 (34/44)	63.01–87.16
B vs C	90.91 (40/44)	78.84–96.41	81.82 (36/44)	68.04–90.49	81.82 (36/44)	68.04–90.49

Kvalitativní Shoda – Mezi Šaržemi						
Metoda Interpretace	Šarže 1 vs Šarže 2		Šarže 1 vs Šarže 3		Šarže 2 vs Šarže 3	
	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI
A vs A	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60
B vs B	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74
C vs C	84.09 (37/44)	70.63 – 92.07	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85
A vs B	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74	93.18 (41/44)	81.77 – 97.65
A vs C	77.27 (34/44)	63.01 – 87.16	77.27 (34/44)	63.01 – 87.16	75.00 (33/44)	60.56 – 85.43
B vs C	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85	81.82 (36/44)	68.04 – 90.49	77.27 (34/44)	63.01 – 87.16
B vs A	93.18 (41/44)	81.77 – 97.65	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74	95.45 (42/44)	84.87 – 98.74
C vs A	84.09 (37/44)	70.63 – 92.07	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85
C vs B	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60	90.91 (40/44)	78.84 – 96.41	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85

ii. Shoda vzorců:

Shoda vzorců – v rámci šarže						
Metoda Interpretace	Šarže 1		Šarže 2		Šarže 3	
	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI
A vs B	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00
A vs C	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	86.36 (19/22)	66.67 – 95.25	82.61 (19/23)	62.86 – 93.02
B vs C	96.00 (24/25)	80.46 – 99.29	86.36 (19/22)	66.67 – 95.25	84.00 (21/25)	65.35 – 93.60

Shoda vzorců – mezi šaržemi						
Metoda Interpretace	Šarže 1 vs Šarže 2		Šarže 1 vs Šarže 3		Šarže 2 vs Šarže 3	
	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI	% Shoda	95%CI
AvsA	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00
B vs B	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (25/25)	86.68 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00
C vs C	83.33 (20/24)	64.15 – 93.32	80.77 (21/26)	62.12 – 91.49	80.00 (20/25)	60.87 – 91.14
A vs B	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00
A vs C	86.36 (19/22)	66.67 – 95.25	82.61 (19/23)	62.86 – 93.02	86.36 (19/22)	66.67 – 95.25
B vs C	82.61 (19/23)	62.86 – 93.02	84.00 (21/25)	65.35 – 93.60	86.96 (20/23)	67.87 – 95.46
B vs A	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00
C vs A	100.00 (22/22)	85.13 – 100.00	95.65 (22/23)	79.01 – 99.23	86.36 (19/22)	66.67 – 95.25
C vs B	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	96.00 (24/25)	80.46 – 99.29	86.96 (20/23)	67.87 – 95.46

iii. Shoda titrů na koncovém bodě:

Koncové titry – Šarže 1*			
Sample	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:40
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:80
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:160	1:160
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:1280	1:2560	1:2560
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:640	1:640	1:640

Šarže 1 = stejná tabulka jako studie linearity

** UNC považováno za negativní

Koncové titry – Šarže 2			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:160
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:80
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:160	1:160
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:1280	1:1280	1:1280
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:320	1:320	1:320

* UNC považováno za negativní

Koncové titry – Šarže 3			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:80
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:80
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:160
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:160	1:160
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:2560	1:2560	1:2560
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:320	1:640	1:640

* UNC považováno za negativní

Koncové titry – Šarže 1*			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C**
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:40
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:160
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:160	1:320
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:1280	1:2560	1:5120
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:640	1:640	1:640

* Šarže 1 = stejná tabulka jako studie linearity

** UNC považováno za pozitivní

Koncové titry – Šarže 2			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:320
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:160
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:160
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:160	1:320
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:1280	1:1280	1:2560
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:320	1:320	1:320

* UNC považováno za pozitivní

Koncové titry – Šarže 3			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C*
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:160
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	1:40	1:40	1:80
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:320
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:160	1:320
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:2560	1:2560	1:5120
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:320	1:640	1:1280

* UNC považováno za pozitivní

c. Studie Referenčního Rozmezí:

Bylo získáno sto padesát náhodně vybraných vzorků séra od zdravých dárců ze severovýchodní části Spojených států. Vzorky byly testovány při ředění 1:20 pro screening a interpretovány všemi třemi metodami. Výsledky screeningového testu jsou shrnuty níže:

Sebia ANCA IFA Ethanol – Referenční Rozmezí (n = 150)			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C**
Pozitivní	16*	16*	19**
Negativní	134	134	125
Nejistý	N/A	N/A	6***

*6 z 16 ANA pozitivních pomocí HEp-2 IFA

**7 z 19 ANA pozitivních pomocí HEp-2 IFA

***1 ze 6 ANA pozitivních pomocí HEp-2 IFA

d. Studie opakovatelnosti po dobu dvaceti dnů:

Bylo sestaveno následujících osm vzorků séra: Dva slabě pozitivní vzorky (~1:20–1:40 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a také dva negativní vzorky. Všechny osm vzorků bylo testováno ve trojitém opakování, při screeningovém ředění 1:20, jednou denně, po dobu dvaceti různých dnů, pomocí testovacího systému ANCA s ethanolovou fixací pro IFA. Kvalitativní výsledky a výsledky vzorců byly interpretovány dvěma technikami pro Metodu A a B a jedním přístrojem dIFine pro Metodu C. Totožnost vzorků byla před každým testovacím dnem zasklepena a náhodně promíchána.

Výsledky:

i. Kvalitativní Shoda v Rámci Metoda:

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Shoda Metoda A (95% CI)	Shoda Metoda B (95% CI)	Shoda Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94.0 – 100%)	60/60 – 100% (94.0 – 100%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)
Negativní-1	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)
Negativní-2	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Shoda Metoda A (95% CI)	Shoda Metoda B (95% CI)	Shoda Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94.0 - 100%)	60/60 - 100% (94.0 - 100%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
Negativní-1	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
Negativní-2	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technici 1 A 2 Společně)

Vzorek	Shoda Metoda A (95% CI)	Shoda Metoda B (95% CI)	Shoda Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
Negativní-1	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
Negativní-2	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)

ii. Kvalitativní Shoda Mezi Metodami:

Kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B Shoda (95% CI)	Metoda A vs Metoda C Shoda (95% CI)	Metoda B vs Metoda C Shoda (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94.0 - 100%)	60/60 - 100% (94.0 - 100%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
Negativní-1	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
Negativní-2	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B Shoda (95% CI)	Metoda A vs Metoda C Shoda (95% CI)	Metoda B vs Metoda C Shoda (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94.0 - 100%)	60/60 - 100% (94.0 - 100%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
Negativní-1	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
Negativní-2	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (technici 1 a 2 společně)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B Shoda (95% CI)	Metoda A vs Metoda C Shoda (95% CI)	Metoda B vs Metoda C Shoda (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
Negativní-1	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
Negativní-2	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)

iii. Shoda Vzorců v Rámci Metoda:

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Shoda Metoda A (95% CI)	Shoda Metoda B (95% CI)	Shoda Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	59/60 - 98.3% (91.1 - 99.7%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Shoda Metoda A (95% CI)	Shoda Metoda B (95% CI)	Shoda Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	59/60 - 98.3% (91.1 - 99.7%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technici 1 a 2 Společně)

Vzorek	Shoda Metoda A (95% CI)	Shoda Metoda B (95% CI)	Shoda Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	118/120 - 98.3% (94.1 - 99.5%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	116/120 - 96.7% (91.7 - 98.7%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	116/120 - 96.7% (91.7 - 98.7%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)

iv. Hoda Vzorců Mezi Metodami:

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B Shoda (95% CI)	Metoda A vs Metoda C Shoda (95% CI)	Metoda B vs Metoda C Shoda (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	59/60 - 98.3% (91.1 - 99.7%)	59/60 - 98.3% (91.1 - 99.7%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B Shoda (95% CI)	Metoda A vs Metoda C Shoda (95% CI)	Metoda B vs Metoda C Shoda (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	59/60 - 98.3% (91.1 - 99.7%)	59/60 - 98.3% (91.1 - 99.7%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)	58/60 - 96.7% (88.6 - 99.1%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)	60/60 - 100% (94 - 100%)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technici 1 a 2 Společně)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B Shoda (95% CI)	Metoda A vs Metoda C Shoda (95% CI)	Metoda B vs Metoda C Shoda (95% CI)
PR3 (c-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	118/120 - 98.3% (94.1 - 99.5%)	118/120 - 98.3% (94.1 - 99.5%)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	116/120 - 96.7% (91.7 - 98.7%)	116/120 - 96.7% (91.7 - 98.7%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	116/120 - 96.7% (91.7 - 98.7%)	116/120 - 96.7% (91.7 - 98.7%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)	120/120 - 100% (96.9 - 100%)

e. Pětidenní Studie Reprodukovatelnosti Na Více Pracovištích:

Bylo sestaveno následujících osm vzorků séra: Dva slabě pozitivní vzorky (~1:20–1:40 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a také dva negativní vzorky. Všechny osm vzorků bylo testováno ve trojitěm opakování, při screeningovém ředění 1:20, dvakrát denně, po dobu pěti různých dnů, třemi různými technikami, pomocí testovacího systému ANCA s ethanolovou fixací pro IFA. Ve třech různých laboratořích byly kvalitativní výsledky a výsledky vzorců interpretovány dvěma technikami pro metodu A a B a jedním přístrojem dIFine pro metodu C (celkem šest techniků a tři přístroje dIFine). Totožnost vzorků byla před každým testovacím dnem zaslepena a náhodně promíchána.

Výsledky:

i. Shoda Kvalitativních Výsledků

a. V rámci metoda

Site 1 – Shoda Kvalitativních Výsledků V Rámci Metoda

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Site 2 – Shoda Kvalitativních Výsledků V Rámci Metoda

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Shoda Kvalitativních Výsledků V Rámci Metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	29/30 - 96.7% (83.3 - 99.4%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Site 3 – Shoda Kvalitativních Výsledků V Rámci Metoda

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% Ci)	Metoda B (95% Ci)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	29/30 - 96.7% (83.3 - 99.4%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

b. Mezi Metodami:**Site 1 – Shoda Kvalitativních Výsledků Mezi Metodami****Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 1)**

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Site 2 – Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	29/30 - 96.7% (83.3 - 99.4%)	29/30 - 96.7% (83.3 - 99.4%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	29/30 - 96.7% (83.3 - 99.4%)	29/30 - 96.7% (83.3 - 99.4%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-2	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)

Site 3 – Shoda Kvalitativních Výsledků Mezi Metodami

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
Negativní-2	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
Negativní-2	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Po sloučení výsledků ze všech osmi vzorků lze kvalitativní výsledky také shrnout následovně:

Reprodukovatelnost metoda A na více pracovištích: Kvalitativní výsledky ze tří pracovišť a dvou techniků na každém pracovišti, porovnávající výsledky mezi pracovišti a mezi techniky.

			Site 1		Site 2		Site 3					
			Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2				
			Metoda A		Metoda A		Metoda A					
Site1	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)				
Site2	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)				
Site3	Technik 1	Metoda A						240/240 - 100% (98.42 - 100.00)				
	Technik 2											

Reprodukovatelnost metoda B na více pracovištích: Kvalitativní výsledky ze tří pracovišť a dvou techniků na každém

			Site 1		Site 2		Site 3					
			Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2	Technik 1	Technik 2				
			Metoda B		Metoda B		Metoda B					
Site1	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)	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)				
Site2	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)				
	Technik 2						240/240 - 100% (98.42 - 100.00)	240/240 - 100% (98.42 - 100.00)				
Site3	Technik 1	Metoda B						240/240 - 100% (98.42 - 100.00)				
	Technik 2											

pracovišti, porovnávající výsledky mezi pracovišti a mezi techniky.

Reprodukovatelnost metoda C na více pracovištích – kvalitativní výsledky při porovnání mezi pracovišti

		Site1	Site2	Site3
		Metoda C		
Site1	Metoda C		239/240 - 99.58% (97.68 - 99.93)	239/240 - 99.58% (97.68 - 99.93)
Site2				238/240 - 99.17% (97.01 - 99.77)
Site3				

ii. Shoda Výsledků Vzorců
a. V Rámci Metoda

Site 1 – Shoda Výsledků Vzorců V Rámci Metoda

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A

Vzorek	Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	28/30 - 93.3% (78.7 - 98.2%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	27/30 - 90.0% (74.4 - 96.5%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A
Negativní-2	N/A

Site 2 – Shoda Výsledků Vzorců V Rámci Metoda

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A

Vzorek	Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	25/30 - 83.3% (66.4 - 92.7%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	28/30 - 93.3% (78.7 - 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	28/30 - 93.3% (78.7 - 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A
Negativní-2	N/A

Site 3 – Shoda Výsledků Vzorců V Rámci Metoda

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A

Shoda výsledků vzorců v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A

Vzorek	Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A
Negativní-2	N/A

b. Mezi Metodami:

Site 1 – Shoda Výsledků Vzorců Mezi Metodami

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A

Site 2 – Shoda Výsledků Vzorců Mezi Metodami

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A

Site 3 – Shoda Výsledků Vzorců Mezi Metodami

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)	25/30 – 83.3% (66.4 – 92.7%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A

Shoda výsledků vzorců mezi metodami (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
MPO (p-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	25/30 - 83.3% (66.4 - 92.7%)	25/30 - 83.3% (66.4 - 92.7%)
MPO (p-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	28/30 - 93.3% (78.7 - 98.2%)	28/30 - 93.3% (78.7 - 98.2%)
MPO (p-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Slabě pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Středně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Silně pozitivní	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)	30/30 - 100% (88.7 - 100.0%)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A

Po sloučení výsledků, které vykazovaly pozitivní shodu ze všech šesti vzorků, lze výsledky vzorců také shrnout následovně:

Reprodukovatelnost metoda A na více pracovištích: Výsledky vzorců ze tří pracovišť a dvou techniků na každém pracovišti, porovnávající Site mezi sebou a techniky mezi sebou.

			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		180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)				
	Technik 2				180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)				
Site 2	Technik 1	Metoda A				180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)					
	Technik 2						180/180 - 100% (97.91 - 100.00)	180/180 - 100% (97.91 - 100.00)				
Site 3	Technik 1	Metoda A						180/180 - 100% (97.91 - 100.00)				
	Technik 2											

Reprodukovatelnost metoda B na více pracovištích: Výsledky vzorců ze tří pracovišť a dvou techniků na každém pracovišti, porovnávající výsledky mezi pracovišti a mezi techniky.

			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		180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)
	Technik 2				180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)
Site 2	Technik 1				180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	
	Technik 2					180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	
Site 3	Technik 1	Metoda B						180/180 – 100% (97.91 – 100.00)
	Technik 2							

Reprodukovatelnost metoda C na více pracovištích – výsledky vzorců při porovnání mezi pracovišti

		Site 1	Site 2	Site 3
		Metoda C		
Site 1	Metoda C		166/179 - 92.74% (87.97 - 95.71)	170/180 - 94.44% (90.08 - 96.95)
Site 2				164/179 - 91.62% (86.64 - 94.86)
Site 3				

f. Studie Interference:

Bylo sestaveno následujících osm vzorků séra: Dva slabě pozitivní vzorky (~1:20–1:40 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 koncové ředění); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a také dva negativní vzorky. Těchto osm vzorků bylo obohaceno dvěma různými koncentracemi (nízkou a vysokou) devatenácti různých interferujících látek, jak je uvedeno v tabulce níže. Všechny vzorky byly testovány ve trojitém opakování při ředění 1:20 a interpretovány všemi třemi výše uvedenými metodami. Kvalitativní výsledky a výsledky vzorců byly interpretovány dvěma technikami pro metoda A a B a jedním přístrojem dIFine pro metodu C.

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

Žádná z interferujících látek neovlivnila očekávané výsledky u žádného opakovaného testu při hodnocení metodami A a B. Metoda C vykázala nejisté a/nebo negativní výsledky u několika opakování pozitivních vzorků, stejně jako nesprávné výsledky vzorců u některých pozitivních opakování. Nicméně vzhledem k relativně nízké četnosti těchto nesprávných výsledků u metoda C nelze usuzovat, že by byly důsledkem interference v testu, protože výsledky metod A a B byly 100% správné. Celkově lze uzavřít, že testovací systém ANCA s ethanolovou fixací pro IFA není ohrožen vznikem chybných výsledků v důsledku přítomnosti testovaných interferujících látek.

2. Studie Klinické Výkonnosti:

a. Popis Souboru

Soubor 583 klinicky charakterizovaných vzorků použitých ve studii je uveden v tabulce níže. Tyto vzorky byly rozděleny na alikvóty, zaslepeny a před testováním náhodně promíchány. Všechny vzorky byly testovány třemi různými technikami při screeningovém ředění 1:20 pomocí testovacího systému Sebia ANCA s ethanolovou fixací pro IFA a jedním technikem pomocí referenčního ANCA testovacího systému s ethanolovou fixací pro IFA. Kvalitativní výsledky a výsledky vzorců pro testovací systém Sebia ANCA s ethanolovou fixací pro IFA byly interpretovány dvěma technikami ve třech různých laboratořích pro metoda A a B, a jedním přístrojem dIFine v každé laboratoři pro metodu C (celkem 6 techniků a 3 přístroje dIFine). Kvalitativní výsledky a výsledky vzorců pro referenční ANCA testovací systém s ethanolovou fixací pro IFA byly interpretovány v jediné laboratoři pomocí metoda A. Výsledky byly použity k hodnocení klinické specifity, klinické citlivosti, kvalitativní shody a shody vzorců mezi jednotlivými interpretačními metodami.

Diagnóza		n
ANCA Asociovaná Vaskulitida (AAV)	Mikroskopická polyangiitida (MPA)	123
	Granulomatóza s polyangiitidou (GPA)	92
	Eozinofilní granulomatóza s polyangiitidou (Egpa)	8
Kontrolní Nemoci	Vaskulitida neasociovaná s ANCA	30
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30
	Revmatoidní artritida	30
	Chronické onemocnění ledvin	30
	Systémová skleróza	30
	Systémový lupus erythematodes	30
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30
	Zánětlivé onemocnění střev	30
	Sinusitida/alergická rýma	30
	Infekční onemocnění	30
	Astma/CHOPN	30
	Rakovina	30
Celkem		583

b. Souhrn Kvalitativních Výsledků

i. Souhrn kvalitativních výsledků testovacího systému Sebia ANCA s ethanolovou fixací pro IFA – Site 1

Site 1														
Diagnóza		n	Sebia ANCA IFA - Ethanol											
			Metoda A				Metoda B				Metoda C (diFine)			
			Technik A		Technik B		Technik A		Technik B		UNC - NEG		UNC - POS	
			n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos
ANCA Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	120	97.56	121	98.37	121	98.37	121	98.37	121	98.37	122	99.19
	GPA	92	85	92.39	85	92.39	85	92.39	85	92.39	82	89.13	85	92.39
	eGPA	8	7	87.50	8	100.00	7	87.50	7	87.50	7	87.50	8	100.00
Kontrolní Onemocnění	Vaskulitida neasociovaná s ANCA	30	12	40.00	12	40.00	12	40.00	12	40.00	13	43.33	15	50.00
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	11	36.67	11	36.67	12	40.00	11	36.67	12	40.00	14	46.67
	Revmatoidní artritida	30	16	53.33	16	53.33	16	53.33	16	53.33	15	50.00	17	56.67
	Chronické onemocnění ledvin	30	14	46.67	13	43.33	14	46.67	13	43.33	11	36.67	15	50.00
	Systémová skleróza	30	17	56.67	17	56.67	17	56.67	17	56.67	17	56.67	17	56.67
	Systémový lupus erythematodes	30	25	83.33	25	83.33	25	83.33	25	83.33	26	86.67	27	90.00
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	8	26.67	8	26.67	8	26.67	8	26.67	7	23.33	9	30.00
	Zánětlivé onemocnění střev	30	12	40.00	12	40.00	12	40.00	12	40.00	12	40.00	12	40.00
	Sinusitida/alergická rýma	30	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	6	20.00	6	20.00
	Infekční onemocnění	30	8	26.67	9	30.00	8	26.67	8	26.67	8	26.67	14	46.67
	Astma/CHOPN	30	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33
	Rakovina	30	5	16.67	4	13.33	5	16.67	5	16.67	4	13.33	7	23.33
Celkem		583												

ii. Souhrn kvalitativních výsledků testovacího systému Sebia ANCA s ethanolovou fixací pro IFA – Site 2

Site 2														
Diagnóza		N	Sebia ANCA IFA – Ethanol											
			Metoda A				Metoda B				Metoda C (diFine)			
			Technik A		Technik B		Technik A		Technik B		UNC – NEG		UNC – POS	
			n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos
ANCA Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	121	98.37	121	98.37	121	98.37	121	98.37	121	98.37	122	99.19
	GPA	92	83	90.22	82	89.13	83	90.22	82	89.13	82	89.13	83	90.22
	eGPA	8	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00
Kontrolní Onemocnění	Vaskulitida neasociovaná s ANCA	30	12	40.00	12	40.00	12	40.00	13	43.33	11	36.67	13	43.33
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	8	26.67	9	30.00	10	33.33	8	26.67	8	26.67	11	36.67
	Revmatoidní artritida	30	15	50.00	15	50.00	15	50.00	15	50.00	14	46.67	15	50.00
	Chronické onemocnění ledvin	30	11	36.67	12	40.00	12	40.00	12	40.00	11	36.67	13	43.33
	Systémová skleróza	30	16	53.33	17	56.67	17	56.67	16	53.33	16	53.33	18	60.00
	Systémový lupus erythematoses	30	24	80.00	24	80.00	24	80.00	24	80.00	23	76.67	25	83.33
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	4	13.33	4	13.33	5	16.67	4	13.33	5	16.67	6	20.00
	Zánětlivé onemocnění střev	30	11	36.67	11	36.67	11	36.67	11	36.67	12	40.00	13	43.33
	Sinusitida/alergická rýma	30	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67
	Infekční onemocnění	30	6	20.00	6	20.00	6	20.00	6	20.00	6	20.00	8	26.67
	Astma/CHOPN	30	3	10.00	3	10.00	3	10.00	3	10.00	3	10.00	3	10.00
	Rakovina	30	5	16.67	5	16.67	5	16.67	5	16.67	4	13.33	5	16.67
Celkem		583												

iii. Souhrn kvalitativních výsledků testovacího systému Sebia ANCA s ethanolovou fixací pro IFA – Site 3

Site 3														
Diagnóza		n	Sebia ANCA IFA – Ethanol											
			Metoda A				Metoda B				Metoda C (diFine)			
			Technik A		Technik B		Technik A		Technik B		UNC – NEG		UNC – POS	
			n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos	n Pos	% Pos
ANCA Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	122	99.19	122	99.19	122	99.19	122	99.19	122	99.19	122	99.19
	GPA	92	88	95.65	88	95.65	88	95.65	87	94.57	84	91.30	86	93.48
	eGPA	8	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00
Kontrolní Onemocnění	Vaskulitida neasociovaná s ANCA	30	13	43.33	13	43.33	14	46.67	14	46.67	14	46.67	15	50.00
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	14	46.67	12	40.00	15	50.00	14	46.67	13	43.33	16	53.33
	Revmatoidní artritida	30	17	56.67	17	56.67	17	56.67	17	56.67	15	50.00	17	56.67
	Chronické onemocnění ledvin	30	15	50.00	14	46.67	15	50.00	15	50.00	14	46.67	17	56.67
	Systémová skleróza	30	17	56.67	18	60.00	20	66.67	20	66.67	19	63.33	20	66.67
	Systémový lupus erythematoses	30	24	80.00	25	83.33	25	83.33	25	83.33	25	83.33	26	86.67
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	8	26.67	8	26.67	9	30.00	9	30.00	7	23.33	11	36.67
	Zánětlivé onemocnění střev	30	14	46.67	13	43.33	14	46.67	15	50.00	12	40.00	14	46.67
	Sinusitida/alergická rýma	30	3	10.00	5	16.67	4	13.33	4	13.33	4	13.33	5	16.67
	Infekční onemocnění	30	8	26.67	7	23.33	10	33.33	10	33.33	7	23.33	11	36.67
	Astma/CHOPN	30	3	10.00	3	10.00	4	13.33	4	13.33	3	10.00	4	13.33
	Rakovina	30	8	26.67	8	26.67	7	23.33	8	26.67	6	20.00	9	30.00
Celkem		583												

iv. Souhrn kvalitativních výsledků referenčního ANCA testovacího systému s ethanolovou fixací pro IFA

Diagnóza		n	Referenční ANCA IFA – Ethanol	
			Metoda A	
			n Pos	% Pos
ANCA Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	119	96.75
	GPA	92	82	89.13
	eGPA	8	6	75.00
Kontrolní Onemocnění	Vaskulitida neasociovaná s ANCA	30	16	53.33
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	14	46.67
	Revmatoidní artritida	30	15	50.00
	Chronické onemocnění ledvin	30	11	36.67
	Systémová skleróza	30	20	66.67
	Systémový lupus erythematoses	30	23	76.67
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	8	26.67
	Zánětlivé onemocnění střev	30	12	40.00
	Sinusitida/alergická rýma	30	2	6.67
	Infekční onemocnění	30	8	26.67
	Astma/CHOPN	30	4	13.33
	Rakovina	30	6	20.00

c. Klinická citlivost a klinická specifita:

Klinická citlivost byla vypočtena na každém pracovišti na základě kvalitativních výsledků ze vzorků s ANCA-asociovanou vaskulitidou (n = 223). Specifita byla vypočtena ze souboru kombinovaných kvalitativních výsledků vzorků s kontrolními onemocněními (n = 360).

i. Testovací systém Sebia ANCA s ethanolovou fixací pro IFA

Site	Technik	Interpretace	AAV (n = 223)		CD (n = 360)	
			%Citlivost	95%CI	%Citlivost	95%CI
1	A	Metoda A	95.07	91.38 – 97.22	62.22	57.11 – 67.08
		Metoda B	95.52	91.94 – 97.55	61.94	56.83 – 66.81
	B	Metoda A	95.96	92.51 – 97.86	62.50	57.39 – 67.34
		Metoda B	95.52	91.94 – 97.55	62.50	57.39 – 67.34
	dlFine	Metoda C (UNC=NEG)	94.17	90.28 – 96.56	62.50	57.39 – 67.34
		Metoda C (UNC=POS)	96.41	93.08 – 98.17	56.67	51.50 – 61.69
2	A	Metoda A	95.07	91.38 – 97.22	67.50	62.50 – 72.13
		Metoda B	95.07	91.38 – 97.22	66.11	61.07 – 70.81
	B	Metoda A	94.62	90.83 – 96.90	66.67	61.64 – 71.34
		Metoda B	94.62	90.83 – 96.90	66.94	61.93 – 71.60
	dlFine	Metoda C (UNC=NEG)	94.62	90.83 – 96.90	68.06	63.07 – 72.66
		Metoda C (UNC=POS)	95.52	91.94 – 97.55	63.33	58.24 – 68.15
3	A	Metoda A	97.76	94.86 – 99.04	60.00	54.86 – 64.93
		Metoda B	97.76	94.86 – 99.04	57.22	52.06 – 62.23
	B	Metoda A	97.76	94.86 – 99.04	60.28	55.14 – 65.20
		Metoda B	97.31	94.26 – 98.76	56.94	51.78 – 61.96
	dlFine	Metoda C (UNC=NEG)	95.96	92.51 – 97.86	61.39	56.26 – 66.27
		Metoda C (UNC=POS)	96.86	93.66 – 98.47	54.17	49.00 – 59.24

ii. Referenční ANCA testovací systém s ethanolovou fixací pro IFA

Interpretace	AAV (n = 223)		CD (n = 360)	
	%Citlivost	95%CI	%Citlivost	95%CI
Metoda A	92.83	88.66 – 95.54	61.39	56.26 – 66.27

iii. Závěr k Citlivosti a Specifitě:

Hodnoty citlivosti pro kohortu s AAV se napříč všemi třemi metodami a třemi pracovišti pohybovaly v rozmezí od 94.17% do 97.76%. Klinická specifita u kohorty s kontrolními onemocněními se napříč všemi třemi metodami a třemi pracovišti pohybovala v rozmezí od 54.17% do 68.06%. Pokud se zprůměrují všechny metoda interpretace napříč třemi pracovišti, průměrná klinická citlivost ve skupině AAV činí 95.86% a průměrná klinická specifita ve skupině s kontrolními onemocněními činí 62.05%. Vzhledem k tomu, že vzorky séra s AAV použité v této studii byly odebrány v době stanovení diagnózy, je vysoká úroveň zjištěné citlivosti v souladu s publikovanou literaturou^{15 16} a rovněž s referenčním zařízením, které bylo testováno souběžně na stejných vzorcích. Získané hodnoty specifity jsou rovněž v souladu se souhrny 510(k) podobných zařízení, stejně jako s referenčním zařízením testovaným paralelně na stejných vzorcích.

d. Shoda Interpretáčních Metod:

Souhrn porovnání shody kvalitativních a vzorových výsledků mezi metodami A a B, metodami A a C a metodami B a C je uveden v tabulkách níže:

i. Kvalitativní porovnání – Metoda A vs Metoda B

Metoda A vs Metoda B		Pozitivní shoda (95%CI)	Negativní shoda (95%CI)	Celková shoda (95%CI)
Site1	Technik A	347/348, 99.71%	232/235, 98.72%	579/583, 99.31%
		(98.39–99.95)	(96.31–99.56)	(98.25–99.73)
	Technik B	347/349, 99.43%	233/234, 99.57%	580/583, 99.49%
		(97.93–99.84)	(97.62–99.92)	(98.50–99.82)
Site2	Technik A	329/329, 100.00%	249/254, 98.03%	578/583, 99.14%
		(98.85–100.00)	(95.48–99.16)	(98.01–99.63)
	Technik B	329/331, 99.40%	251/252, 99.60%	580/583, 99.49%
		(97.82–99.83)	(97.79–99.93)	(98.50–99.82)
Site 3	Technik A	359/362, 99.17%	208/221, 94.12%	567/583, 97.26%
		(97.59–99.72)	(90.20–96.53)	(95.59–98.30)
	Technik B	356/361, 98.61%	206/222, 92.79%	562/583, 96.40%
		(96.80–99.41)	(88.61–95.52)	(94.56–97.63)

ii. Kombinovaná kvalitativní shoda pro metodu A vs metodu B – všechna Site / všichni technici

Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
2067/2080, 99.38%	1379/1418, 97.25%	3446/3498, 98.51%
(98.93–99.63)	(96.26–97.98)	(98.06–98.86)

iii. Kvalitativní porovnání – Metoda A vs Metoda C

Porovnání mezi metodou A a metodou C bylo provedeno dvakrát; jednou s předpokladem, že všechny výsledky metoda C označené jako UNC byly považovány za negativní, a jednou s předpokladem, že všechny výsledky metoda C označené jako UNC byly považovány za pozitivní.

Metoda A vs Metoda C (UNC=Neg)		Pozitivní shoda (95%CI)	Negativní shoda (95%CI)	Celková shoda (95%CI)
Site1	Technik A	337/348, 96.84%	227/235, 96.60%	564/583, 96.74%
		(94.43–98.23)	(93.43–98.27)	(94.97–97.90)
	Technik B	337/349, 96.56%	226/234, 96.58%	563/583, 96.57%
		(94.09–98.02)	(93.40–98.26)	(94.76–97.77)
Site2	Technik A	322/329, 97.87%	250/254, 98.43%	572/583, 98.11%
		(95.67–98.97)	(96.02–99.39)	(96.65–98.94)
	Technik B	322/331, 97.28%	248/252, 98.41%	570/583, 97.77%
		(94.91–98.56)	(95.99–99.38)	(96.22–98.69)
Site 3	Technik A	347/362, 95.86%	215/221, 97.29%	562/583, 96.40%
		(93.28–97.47)	(94.20–98.75)	(94.56–97.63)
	Technik B	346/361, 95.84%	215/222, 96.85%	561/583, 96.23%
		(93.26–97.47)	(93.64–98.46)	(94.35–97.49)

Metoda A vs Metoda C (UNC = POS)		Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
Site1	Technik A	348/348, 100.00%	212/235, 90.21%	560/583, 96.05%
		(98.91-100.00)	(85.74-93.39)	(94.15-97.36)
	Technik B	349/349, 100.00%	212/234, 90.60%	561/583, 96.23%
		(98.91-100.00)	(86.18-93.71)	(94.35-97.49)
Site2	Technik A	327/329, 99.39%	236/254, 92.91%	563/583, 96.57%
		(97.81-99.83)	(89.08-95.47)	(94.76-97.77)
	Technik B	329/331, 99.40%	236/252, 93.65%	565/583, 96.91%
		(97.82-99.83)	(89.94-96.05)	(95.17-98.04)
Site 3	Technik A	358/362, 98.90%	198/221, 89.59%	556/583, 95.37%
		(97.19-99.57)	(84.87-92.96)	(93.35-96.80)
	Technik B	355/361, 98.34%	196/222, 88.29%	551/583, 94.51%
		(96.42-99.24)	(83.39-91.88)	(92.35-96.09)

iv. Kombinovaná kvalitativní shoda pro metoda A vs metoda C – všechna Site / všichni technici

Metoda C (UNC = Neg)		
Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
2011/2080, 96.68%	1381/1418, 97.39%	3392/3498, 96.97%
(95.82-97.37)	(96.42-98.10)	(96.35-97.49)

Metoda C (UNC = Pos)		
Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
2066/2080, 99.33%	1290/1418, 90.97%	3356/3498, 95.94%
(98.87-99.60)	(89.37-92.36)	(95.23-96.55)

v. Kvalitativní Porovnání – Metoda B Vs Metoda C

Porovnání mezi metodou B a metodou C bylo provedeno dvakrát; jednou za předpokladu, že všechny výsledky metoda C označené jako UNC byly považovány za negativní, a podruhé za předpokladu, že všechny výsledky metoda C označené jako UNC byly považovány za pozitivní.

Metoda B vs Metoda C (UNC=Neg)		Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
Site1	Technik A	338/350, 96.57%	226/233, 97.00%	564/583, 96.74%
		(94.10-98.03)	(93.93-98.54)	(94.97-97.90)
	Technik B	337/348, 96.84%	227/235, 96.60%	564/583, 96.74%
		(94.43-98.23)	(93.43-98.27)	(94.97-97.90)
Site2	Technik A	322/334, 96.41%	245/249, 98.39%	567/583, 97.26%
		(93.83-97.93)	(95.94-99.37)	(95.59-98.30)
	Technik B	322/330, 97.58%	249/253, 98.42%	571/583, 97.94%
		(95.29-98.77)	(96.01-99.38)	(96.44-98.82)
Site 3	Technik A	352/372, 94.62%	210/211, 99.53%	562/583, 96.40%
		(91.84-96.49)	(97.36-99.92)	(94.56-97.63)
	Technik B	352/372, 94.62%	210/211, 99.53%	562/583, 96.40%
		(91.84-96.49)	(97.36-99.92)	(94.56-97.63)

Metoda B vs Metoda C (UNC=POS)		Pozitivní shoda (95%CI)	Negativní shoda (95%CI)	Celková shoda (95%CI)
Site1	Technik A	350/350, 100.00%	212/233, 90.99%	562/583, 96.40%
		(98.91-100.00)	(86.62-94.03)	(94.56-97.63)
	Technik B	348/348, 100.00%	212/235, 90.21%	560/583, 96.05%
		(98.91-100.00)	(85.74-93.39)	(94.15-97.36)
Site2	Technik A	332/334, 99.40%	236/249, 94.78%	568/583, 97.43%
		(97.84-99.84)	(91.27-96.92)	(95.80-98.43)
	Technik B	328/330, 99.39%	236/253, 93.28%	564/583, 96.74%
		(97.82-99.83)	(89.50-95.76)	(94.97-97.90)
Site3	Technik A	369/372, 99.19%	199/211, 94.31%	568/583, 97.43%
		(97.66-99.73)	(90.32-96.72)	(95.80-98.43)
	Technik B	368/372, 98.92%	198/211, 93.84%	566/583, 97.08%
		(97.27-99.58)	(89.75-96.36)	(95.38-98.17)

vi. Kombinovaná kvalitativní shoda pro metodu B vs metodu C – všechna Site / všichni technici

Metoda C (UNC = Neg)		
Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
2023/2106, 96.06%	1367/1392, 98.20%	3390/3498, 96.91%
(95.14-96.81)	(97.36-98.78)	(96.29-97.44)

Metoda C (UNC = Pos)		
Pozitivní Shoda (95%CI)	Negativní Shoda (95%CI)	Celková Shoda (95%CI)
2095/2106, 99.48%	1293/1392, 92.89%	3388/3498, 96.86%
(99.07-99.71)	(91.42-94.12)	(96.22-97.38)

vii. Shoda Vzorců – Jednotlivá Site

Shoda Vzorců		Metoda A vs Metoda B (95%CI)	Metoda A vs Metoda C (95%CI)	Metoda B vs Metoda C (95%CI)
Site1	Technik A	336/347, 96.83%	290/337, 86.05%	290/338, 85.80%
		(94.41-98.22)	(81.95-89.35)	(81.67-89.12)
	Technik B	327/347, 94.24%	296/337, 87.83%	289/337, 85.76%
		(91.27-96.24)	(83.91-90.90)	(81.62-89.09)
Site2	Technik A	329/329, 100.00%	281/322, 87.27%	281/322, 87.27%
		(98.85-100.00)	(83.18-90.47)	(83.18-90.47)
	Technik B	329/329, 100.00%	280/322, 86.96%	280/322, 86.96%
		(98.85-100.00)	(82.84-90.20)	(82.84-90.20)
Site3	Technik A	328/359, 91.36%	295/347, 85.01%	323/352, 91.76%
		(88.00-93.85)	(80.88-88.39)	(88.42-94.20)
	Technik B	324/356, 91.01%	277/346, 80.06%	287/352, 81.53%
		(87.59-93.56)	(75.53-83.93)	(77.15-85.24)

viii. Kombinovaná Shoda Vzorců – Všechna Site / Všichni Technici

Metoda A vs Metoda B (95%CI)	Metoda A vs Metoda C (95%CI)	Metoda B vs Metoda C (95%CI)
1973/2067, 95.45%	1719/2011, 85.48%	1750/2023, 86.51%
(94.47 – 96.27)	(83.87 – 86.95)	(84.95 – 87.93)

ix. Závěr Studií Shody:

Ve všech případech byla shoda kvalitativních a vzorových výsledků mezi jednotlivými interpretačními metodami poměrně vysoká, což naznačuje, že všechny tři metoda (manuální mikroskopie, digitální odečet pomocí skeneru Sebia dIFine® a automatizované vyhodnocení ze skeneru Sebia dIFine®) spolu dobře korelují a vykazují jen málo odchylek.

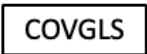
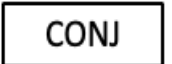
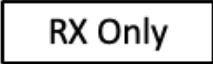
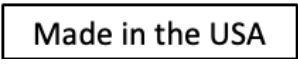
Celkově tato data potvrzují, že automatické vyhodnocení provedené přístrojem Sebia dIFine® (metoda C) se ve většině případů shoduje s metodou A a/nebo metodou B (neautomatizované způsoby vyhodnocení). Přesto však zůstává konečné rozhodnutí na odpovědnosti vyškoleného operátora.

ODKAZ

1. Fijolek, Justyna, a Elżbieta Wiatr. „Protilátky proti cytoplazmě neutrofilů (ANCA) – jejich role v patogenezi, diagnostice a monitorování léčby vaskulitid spojených s ANCA.” *Central European Journal of Immunology* 45, č. 2 (2020): 218–227. Online publikováno 9. července 2020.
2. Bacchiega, Ana Beatriz Santos, Manuella Lima Gomes Ochrop a Alexandre W. S. de Souza. „Systémové vaskulitidy.” In *Autoimmunity: From Bench to Bedside*, eds. Anaya JM, Shoenfeld Y, Rojas-Villarraga A, et al. Bogotá (Kolumbie): El Rosario University Press, 18. července 2013.
3. Kallirroi S. Kyriakidi, Vasileios E. Tsianos, Evaggelos Karvounis, Dimitrios K. Christodoulou, Konstantinos H. Katsanos, Epameinondas V. Tsianos. „Neutrofilní autoantigenní proteiny ANCA: baktericidní zvyšující protein, laktoferrin, katepsin a elastáza jako sérologické markery zánětlivého onemocnění střev a jiných nemocí.” *Ann Gastroenterol.* 24;29(3):258–267. doi: 10.20524/aog.2016.0028 (březen 2016)
4. Emma Leacy, Gareth Brady, Mark A. Little. „Patogeneze vaskulitid spojených s ANCA: nově se objevující role imunometabolismu.” *Rheumatology* Sv. 59, dodatek 3 (květen 2020).
5. Martin, Katherine R., Chahrazade Kantari-Mimoun, Min Yin, Philippe Frachet, Chantal M. Boulanger, a Véronique Witko-Sarsat. „Proteináza 3 je protein vázající fosfatidylserin, který ovlivňuje produkci a funkci mikrovezikul.” *Journal of Biological Chemistry* 291, č. 20 (květen 2016): 10476–10489.
6. Christian Frangie a Jalil Dahe. „Role myeloperoxidázy v zánětu a ateroskleróze.” *Biomed Rep.* 16(6):53. doi: 10.3892/br.2022.1536 (květen 2022)
7. Antonella Radice, Laura Bianchi, Renato Alberto Sinico. „Protilátky proti cytoplazmě neutrofilů: metodologické aspekty a klinický význam u systémových vaskulitid.” *Autoimmunity Reviews*, Sv. 12, č. 4, str. 487–495 (únor 2013).
8. Consuelo Romero-Sánchez, Mario Benavides-Solarte, Isabel Galindo-Ibáñez, Ana Isabel Ospina-Caicedo, Viviana Parra-Izquierdo, Lorena Chila-Moreno, Amanda Villa, María Consuelo Casas-Gómez, Ignacio Angarita, Wilson Bautista-Molano, Verónica Romero-Álvarez, Juan Manuel Bello-Gualtero. „Frekvence pozitivních výsledků ANCA testu u populace s klinickými příznaky autoimunitního onemocnění a interference ANA při interpretaci.” *Reumatología Clínica* Sv. 16, č. 6, str. 473–479 (listopad – prosinec 2020)
9. Papp, Maria, Istvan Altorjay, Gabriella Lakos, Judit Tumpek, Sandor Sipka, Tamas Dinya, Karoly Palatka, Gabor Veres, Miklos Udvardy, a Peter Laszlo Lakatos. „Vyhodnocení kombinace ethanol-fixovaných a formaldehydem fixovaných substrátů neutrofilů při identifikaci atypických perinukleárních protilátek ANCA u zánětlivého onemocnění střev.” *Clinical and Vaccine Immunology* 16, č. 4 (2009): 464–470
10. Guillevin, Loic, William A. Falk, Eva Mahr, P. Jayne, D. Merkel, a C. Hellmich. „Klinický význam atypických C-ANCA vzorců.” *Clinical Rheumatology* 57, č. 3 (2000): 846–862. *Perspectives in Renal Medicine*, Springer.
11. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: *Clin. Exp. Immunol.* 3:641, 1968.
12. Postupy pro odběr diagnostických krevních vzorků venepunkcí. Druhé vydání: schválený standard (1984). Vydáno Národním výborem pro standardy klinických laboratoří.
13. Postupy pro manipulaci a zpracování krevních vzorků. NCCLS dokument H18-A, Sv. 10, č. 12, schválená směrnice, 1990.
14. Postupy pro manipulaci a zpracování krevních vzorků pro běžné laboratorní testy; schválené směrnice – 4. vydání (2010). CLSI dokument GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
15. Khalid N, Aeddula NR. „Test protilátek proti cytoplazmě neutrofilů (ANCA).” *StatPearls Publishing*, Treasure Island FL, (leden 2024).
16. Adél Molnár, Péter Studinger, Nóra Ledó. „Diagnostický a terapeutický přístup při glomerulonefritidě spojené s ANCA: Přehled strategií řízení.” *Front. Med.* 9:884188, doi: 10.3389/fmed.2022.884188 (červen 2022).

SLOVNÍK SYMBOLŮ

The following symbols **may** have been used in the labelling of this product.

Symbol	Popis	Symbol	Popis
	Výrobce		Chraňte před slunečním zářením
	<i>In vitro diagnostický lékařský prostředek</i>		Jediné použití jamky testu
	Katalogové číslo		Krycí sklíčko
	Dostatečné pro n testů		Preparát ANCA substrátu (lidské granulocyty)
	Šaržový kód		PBS pufr
	Použít do		Montážní médium
	Omezení skladovací teploty		Konjugát
	Pouze na lékařský předpis		c-ANCA Pozitivní kontrola
	Konzultovat do elektronického pokyny k použití		p-ANCA Pozitivní kontrola
	Skladujte ve vzpřímené poloze		Negativní kontrola
			Vyrobeno v USA



ZEUS Scientific
 200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
 Bezplatná linka (USA): 1-800-286-2111, volba 2
 Mezinárodní: +1 908-526-3744
 Fax: +1 908-526-2058
 Webová stránka: www.zeusscientific.com
 dIFine je registrovaná ochranná známka společnosti ZEUS Scientific

Pro zákaznický servis v USA kontaktujte ZEUS Scientific, volejte zdarma nebo pište na orders@zeusscientific.com.
 Pro technickou podporu v USA kontaktujte ZEUS Scientific, volejte zdarma nebo pište na support@zeusscientific.com.
 Pro zákaznický servis a technickou podporu mimo USA, prosím, kontaktujte svého místního distributora.