



cs

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (Formol-fixované)

REF

FA9611-0510

IVD

Rx Only



URČENO K POUŽITÍ

Testovací systém Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (formol-fixované) je nepřímý imunofluorescenční test (IFA) pro kvalitativní a semikvantitativní stanovení protilátek proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) izotypu IgG v lidském séru pomocí ruční fluorescenční mikroskopie nebo pomocí systému dIFine®. Přítomnost ANCA ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy může napomoci při diagnostice vaskulitidy asociované s ANCA (AAV). Veškeré výsledky navržené systémem dIFine® musí být potvrzeny vyškoleným operátorem.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) jsou autoprottilátky namířené proti antigenům uvnitř cytoplazmy neutrofilů a jsou spojeny se skupinou vzácných onemocnění označovaných jako vaskulitidy asociované s ANCA (AAV).¹ ANCA jsou převážně zaměřeny na dva proteiny – myeloperoxidázu (MPO) a proteinázu 3 (PR3), které se nacházejí v cytoplazmatických granulech neutrofilů; nicméně byly popsány i další antigeny, jako například elastáza, katepsin G a laktoferrin.³ In vivo vykazují MPO a PR3 enzymatickou aktivitu a hrají důležitou roli v obraně vrozeného imunitního systému proti patogenům – včetně produkce kyseliny chlorové, antimikrobiálních peptidů a prozánětlivých cytokinů.² Při testování vzorků pacientů s AAV pomocí etanolem fixovaných ANCA IFA podložních sklíček se obvykle objevují dva různé vzory barvení, v závislosti na tom, zda jsou autoprottilátky namířeny proti PR3 nebo MPO.^{4 5 6} ANCA proti MPO typicky vytvářejí perinukleární vzor barvení (p-ANCA), zatímco ANCA proti PR3 vytvářejí cytoplazmatický vzor barvení (c-ANCA).⁷ Vzorky vykazující p-ANCA vzor jsou typicky spojovány s AAV onemocněními, jako jsou mikroskopická polyangiitida (MPA) a eozinofilní granulomatóza s polyangiitidou (eGPA).⁷ Vzorky vykazující c-ANCA vzor jsou typicky spojovány s granulomatózou s polyangiitidou (GPA), dříve známou jako Wegenerova granulomatóza.⁷ Vzory barvení, které těsně napodobují p-ANCA a/nebo atypické vzory, mohou být také pozorovány v důsledku přítomnosti antinukleárních protilátek (ANA) nebo jiných zkříženě reagujících protilátek, které jsou někdy přítomny ve vzorcích séra od pacientů diagnostikovaných s autoimunitními nebo zánětlivými onemocněními nepatřícími mezi AAV, včetně systémového lupus erythematosus (SLE), idiopatických střevních zánětů (IBD) a revmatoidní artritidy (RA).⁷⁻¹⁰ V důsledku toho by vzorky séra vykazující p-ANCA výsledek na etanol-fixovaných podložkách měly podstoupit další sérologické testování, například ANCA IFA na formolem fixovaných podložkách, testy na MPO/PR3 v pevné fázi a testy na detekci ANA, za účelem rozlišení pravých a falešně pozitivních výsledků.^{7 8}

PRINCIP TESTU

Testovací systém Sebia ANCA Formalin-fixovaný IFA je navržen k detekci přítomnosti ANCA v lidském séru. Test využívá substrát z lidských granulocytů fixovaných formalínem, optimalizovaný roztok kožního anti-lidského IgG konjugovaného s fluorescein-isotiokyanátem (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 zabarvení uvnitř buňky. Pokud vzorek neobsahuje ANCA, nebude pozorováno žádné výrazné jaderné ani cytoplazmatické barvení buňky.

REAGENCIE

Dodávané Materiály:

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

SLD	ANCA substrátové podložní skříčka: Deset pětipolohových sklíček s absorpčním papírem a sáčkem se sušidlem.
CONJ	Konjugát: Kozí anti-lidské IgG značené FITC. Obsahuje fosfátový pufr s BSA a kontrastní barvivo. Dvě hnědé 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 skříčka: Balení dvanácti kusů, 24 × 60 mm, tloušťka č. 1.
BUF PBS	Fosfátový pufr (PBS): pH 7.2 ± 0.2. Obsah každého sáčku s pufrem nasypete do jednoho litru destilované nebo deionizované vody. Míchejte, dokud se všechny soli zcela nerozpustí. Dva sáčky, dostatečné pro přípravu 2 litrů roztoku.
MNTMED	Montovací médium (pufrovaný glycerol): Dvě čiré lahvičky s bílým víčkem, každá obsahuje 3 mL. Připraveno k použití

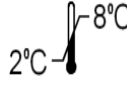
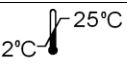
POZNÁMKY:

Následující komponenty nejsou závislé na šarži soupravy a mohou být použity zaměnitelně s produkty Sebia IFA, pokud jsou čísla produktů identická: montovací médium (číslo produktu: FA0009S), negativní kontrola (FA2005-IUNC), krycí skříčka (produkt S8007) a PBS (číslo produktu: 0008S).

MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE NEDODANÝ

1. Přístroj dIFine® nebo vhodně vybavený fluorescenční mikroskop.
2. Pipet(y) schopné dávkovat objemy mezi 10 a 200 µL.
3. Jednorázové špičky na pipety.
4. Malé zkušavky, ředící destička nebo podobné zařízení pro přípravu ředění vzorků.
5. Promývací zařízení na podložní skříčka nebo velká barvicí nádoba s magnetickým míchačem 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 do data expirace uvedeného na štítku specifickém pro danou šarži.
	Po prvním otevření byly montovací médium, konjugát, pozitivní kontroly a negativní kontrola prokázány jako stabilní po dobu až 15 měsíců.
	Rehydratovaný PBS je stabilní po dobu až 30 dnů.
	Neotevřené sáčky s fosfátovým pufrem (PBS) jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku specifickém pro danou šarži.

UPOZORNĚNÍ

1. Pouze pro diagnostiku in vitro.
2. Toto zařízení smí používat pouze vyškolený pracovník v prostředí klinické laboratoře.

3. Všechny výsledky získané pomocí softwaru musí být potvrzeny vyškoleným operátorem.
4. Dodržujte běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagensii. V případě kontaktu s očima okamžitě vypláchněte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Noste vhodný ochranný oděv, rukavice a ochranu očí/obličeje. Nevdechujte páry. Likvidujte odpad v souladu se všemi místními, státními a federálními předpisy.
5. Jamky na podložním sklíčku neobsahují živé buňky. Přesto je nutné považovat podložní sklíčka za **potenciálně biologicky nebezpečný materiál** a podle toho s nimi zacházet.
6. Kontroly jsou **potenciálně biologicky nebezpečný materiál**. Zdrojové materiály, ze kterých byly tyto produkty získány, byly testovány schválenými metodami a byly negativní na antigen HIV-1, HBsAg a protilátky proti HCV a HIV. Vzhledem k tomu, že žádná testovací metoda nemůže zaručit úplnou absenci infekčních agens, je nutné s těmito produkty zacházet podle úrovně biologické bezpečnosti 2, jak je doporučeno pro jakýkoli potenciálně infekční lidský krevní nebo sérový vzorek v příručce Centers for Disease Control/National Institutes of Health „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ – aktuální vydání, a podle standardu OSHA pro patogeny přenášené krví (11).
7. Dodržení stanovené doby a teploty inkubací je nezbytné pro dosažení přesných výsledků. **Před zahájením testu je nutné nechat všechny reagensie dosáhnout laboratorní teploty (20–25 °C)**. Nepoužité reagensie ihned vraťte do původních obalů a dodržujte podmínky skladování.
8. Nesprávné promývání může vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům. Před přidáním konjugátu se ujistěte, že jste důkladně odsáli zbytky PBS, například otřením. Nenechte jamky během inkubací vyschnout.
9. Konjugát a kontroly obsahují azid sodný v koncentraci <0.1 % (w/v). Bylo zjištěno, že azid sodný může v laboratorním odpadním potrubí vytvářet azidy olova nebo mědi, které mohou explodovat při nárazu. Aby se tomu předešlo, důkladně propláchněte dřez vodou po likvidaci roztoků obsahujících azid sodný. Tento konzervant může být toxický při požití.
10. Ředění nebo úprava těchto reagensií může vést k chybným výsledkům.
11. Nikdy nepipetujte ústy. Vyvarujte se kontaktu reagensií a vzorků pacientů s pokožkou a sliznicemi.
12. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagensií. Mohlo by dojít k nesprávným výsledkům.
13. Křížová kontaminace reagensií a/nebo vzorků může vést k chybným výsledkům.
14. Opakovaně použitelné skleněné nádoby musí být důkladně omyté a opláchnuté tak, aby nezůstaly žádné zbytky detergentů.
15. Zabraňte rozstřikování nebo tvorbě aerosolů.
16. Nevystavujte reagensie silnému světlu během skladování nebo inkubace.
17. Před otevřením ochranného obalu nechte balení podložních sklíček aklimatizovat na laboratorní teplotu, aby se zabránilo kondenzaci na jamkách a absorpčním papíru.
18. Sběrný roztok z promývání shromažďujte do odpadní nádoby. Roztok zlikvidujte pomocí dezinfekčního prostředku (např. 10% běžné bělidlo – 0.5% chlornan sodný). Zabraňte vystavení reagensií parám z bělidla.
19. Nevystavujte žádné reaktivní reagensie roztokům obsahujícím bělidlo ani silným výparům z těchto roztoků. I stopové množství chlornanu sodného může zničit biologickou aktivitu mnoha reaktivních složek tohoto testovacího systému.
20. Na obal podložního 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 pokyny v příbalovém letáku.
22. Evansova modř jako kontrastní barvivo je potenciálně karcinogen. Při kontaktu s pokožkou okamžitě opláchněte vodou. Likvidujte podle místních předpisů.

ODBĚR VZORKŮ

1. Doporučuje se, aby uživatel prováděl odběr vzorků v souladu s dokumentem CLSI M29: Ochrana laboratorních pracovníků před infekčními nemocemi získanými při výkonu povolání. Žádná známá testovací metoda nemůže poskytnout úplnou jistotu, že lidské krevní vzorky nepřenášejí infekci. Proto by měly být všechny krevní deriváty považovány za potenciálně infekční.
2. Používejte pouze čerstvě odebrané a správně chlazené vzorky séra získané schválenou aseptickou venepunkcí (12, 13). Do vzorku by neměly být přidávány žádné antikoagulanty ani konzervační látky. Vyhněte se použití hemolytických, lipemických nebo bakteriálně kontaminovaných vzorků séra.

3. Doporučuje se, aby vzorky séra byly uchovávány při laboratorní tepšaržee maximálně po dobu 8 hodin. Pokud testování nebude provedeno do 8 hodin, doporučuje se uchovávat sérum při tepšaržee 2–8 °C po dobu až 48 hodin. Pokud se očekává delší prodleva v testování, uchovejte testovací sérum při tepšaržee –20 °C nebo nižší. Rovněž se doporučuje vyhnout se opakovaným cyklům zmrazování a rozmrazování, které mohou vést ke ztrátě aktivity protilátek. Je však třeba poznamenat, že interní studie využívající testovací systém Sebia ANCA s etanol-fixací prokázaly, že sérum pozitivní i negativní na ANCA je stabilní až po dobu 14 dnů při tepšaržee 2–8 °C nebo při laboratorní tepšaržee. Další interní studie prokázaly, že vzorky séra jsou stabilní minimálně po 4 cyklech zmrazení a rozmrazení. Konečná odpovědnost za stanovení kritérií stability vzorků náleží každé jednotlivé laboratoři, která by se měla řídit dostupnou literaturou a/nebo vlastními validačními studiemi (14).

POSTUP STANOVENÍ

1. Vyjměte sklíčka a další komponenty soupravy z chladicího úložiště a nechte je ohřát na pokojovou tepšaržeu (20–25 °C). Opatrně otevřete ochranný obal a vyjměte sklíčka. **Na ploché strany ochranného obalu nevyvíjejte tlak.**
2. Připravte ředění 1:20 (např.: 10 µL séra + 190 µL PBS pufru) každého vzorku pacientova séra. Při titraci vzorků pacientů by se počáteční ředění 1:20 a všechna následující ředění měla provádět pomocí 1X PBS. **POZNÁMKA: Kontroly jsou určeny k použití neředěné.**
3. Pomocí vhodného dávkovače naneste 30 µL každé kontroly a každého naředěného séra pacienta do příslušných jamek.
4. Inkubujte sklíčka při pokojové tepšaržee (20–25 °C) po dobu 35 ± 5 minut.
5. Jemně opláchněte sklíčka pomocí PBS. Při ručním mytí **nesměřujte proud PBS přímo do testovacích jamek.**
6. Omyjte sklíčka po dobu dvou 5minutových intervalů, přičemž mezi jednotlivými omytími vyměňte PBS.
7. Vyjměte sklíčka z PBS jedno po druhém. Otočte sklíčko a přiložte jamky na otvory v přiložených savých podložkách. Sklíčko osušte otřením zadní strany pomocí savého ubrousku. **UPOZORNĚNÍ:** Umístěte podložku a sklíčko na pevný, rovný povrch. Osušení na papírových ručnicích může zničit matici sklíčka. **Během testovacího postupu nenechte sklíčka vyschnout.**
8. Přidejte 30 µL konjugátu do každé jamky.
9. Opakujte kroky 4 až 7.
10. Naneste 4–5 kapek montážního média na sklíčko.
11. Přiložte krycí sklíčko. Prohlédněte sklíčko pod fluorescenčním mikroskopem.

KONTROLA KVALITY

1. Pro každou sérii testovaných sklíček musí být zahrnuty následující kontroly: p-ANCA pozitivní kontrola, c-ANCA pozitivní kontrola a negativní kontrola.
2. Doporučuje se, aby byly kontroly odečteny před vyhodnocením testovaných vzorků. Pokud kontroly nevykazují níže popsany vzhled, jsou výsledky neplatné:
 - a. Negativní kontrola – charakterizována nepřítomností specifické fluorescence a červeným nebo matně zeleným pozadím všech buněk způsobeným kontrabarvením.
 - b. p-ANCA pozitivní kontrola – Na rozdíl od sklíček fixovaných ethanolem by sklíčka fixovaná formalínem měla vykazovat cytoplazmatický obraz barvení (c-ANCA) s p-ANCA pozitivní kontrolou, přičemž je patrná jablečková fluorescence.
 - c. c-ANCA pozitivní kontrola – charakterizována cytoplazmatickým (c-ANCA) obrazem barvení s jablečkovou fluorescencí.
3. Další kontroly mohou být testovány podle pokynů nebo požadavků místních, státních a/nebo federálních předpisů nebo akreditačních organizací.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

1. Negativní – Charakterizován nepřítomností specifické fluorescence a červeným nebo matně zeleným pozadím všech buněk v důsledku kontrabarvení.
2. c-ANCA Positive – Characterized by cytoplasmic staining pattern exhibiting apple-green fluorescence.
 - a. **Poznámka: Sklíčka fixovaná formalínem vykazují cytoplazmatický obraz barvení při testování vzorků pozitivních na anti-PR3 (c-ANCA), stejně jako vzorků pozitivních na anti-MPO (p-ANCA).**

3. Atypicky pozitivní – Charakterizován směsí jaderného a cytoplazmatického barvení, zvýrazněným/lineárním perinukleárním barvením nebo jinými obrazy barvení, které nelze interpretovat jako čisté c-ANCA nebo p-ANCA, přičemž je patrná jablkově zelená fluorescence.
 - a. **Poznámka: p-ANCA podobné nebo atypické obrazy barvení mohou být na sklíčkách fixovaných formalínem pozorovány v důsledku přítomnosti zkřížené reagujících protilátek, jako jsou antinukleární protilátky (ANA).**

OMEZENÍ TESTU

1. Testovací systém ANCA IFA s formalínovou fixací slouží jako diagnostická pomůcka. Je proto nezbytné, aby výsledky byly interpretovány ve spojení s dalšími doporučenými sérologickými konfirmačními testy ANCA, sérologickým testem ANA a klinickými příznaky pacienta, a to kvalifikovanou lékařskou autoritou.
2. ANA pozitivní vzorky mohou reagovat se sklíčky ANCA IFA fixovanými formalínem a vykazovat pozitivní výsledky s atypickými obrazy barvení a/nebo obrazy, které napodobují p-ANCA.
3. Matrice vzorků jiné než sérum nebyly s tímto testovacím systémem validovány.
4. Všechny navržené výsledky získané pomocí systému dIFine® musí být potvrzeny vyškoleným pracovníkem.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Očekávané hodnoty u normální populace jsou negativní při počátečním ředění 1:20. Vzorky obsahující antinukleární protilátky (ANA) však mohou v rámci normální testované populace vykazovat falešně pozitivní výsledky.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

POZNÁMKA: Při stanovování výkonnostních charakteristik testovacího systému ANCA formol-fixované, IFA byly sklíčka 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 nízcí pozitivní vzorky (~1:20–1:40 konečné ředění); jeden s anti-PR3 (c-ANCA) a jeden s anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 konečné ředění); jeden s anti-PR3 (c-ANCA) a jeden s anti-MPO (p-ANCA). Dva vysoce pozitivní vzorky (>1:160 konečné ředění); jeden s anti-PR3 (c-ANCA) a jeden s anti-MPO (p-ANCA). Těchto šest vzorků bylo testováno při počátečním ředění 1:20 a dále v různých sériových ředěních. Kvalitativní výsledky a vzory barvení byly interpretovány všemi třemi výše uvedenými metodami. Konečná ředění pro každý vzorek a každou metodu jsou uvedena níže:

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	1:40
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:160	1:160	1:80
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:1280	1:1280	1:640
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:640	1:640	1:160

* UNC považováno za negativní

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	1:40
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	1:80	1:80	1:80
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	1:160	1:160	1:160
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	1:1280	1:1280	1:1280
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	1:640	1:640	1:640

** UNC považováno za pozitivní

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

Fluorescenční intenzita (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) Nízká pozitivita	2+	1+	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	2+	1+	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	3+	2+	1+	0	0	0	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	4+	3+	2+	1+	0	0	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	4+	4+	4+	4+	2+	1+	0	0	0	0

NT = Netestováno

Fluorescenční intenzita (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) Nízká pozitivita	2+	1+	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	2+	1+	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	3+	2+	1+	0	0	0	NT	NT	NT	NT
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	4+	3+	2+	1+	0	0	NT	NT	NT	NT
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0	0

NT = Netestováno

b. Reprodukovatelnost mezi šaržemi:

Bylo sestaveno následujících deset vzorků séra: Dva nízké pozitivní vzorky (~1:20–1:40 konečné ředění); jeden s anti-PR3 (c-ANCA) a jeden s anti-MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 konečné ředění); jeden s anti-PR3 (c-ANCA) a jeden s anti-MPO (p-ANCA). Dva vysoce pozitivní vzorky (>1:160 konečné ředění); jeden s anti-PR3 (c-ANCA) a jeden s anti-MPO (p-ANCA), a dále čtyři negativní vzorky. Všechny deset vzorků bylo testováno při počátečním ředění 1:20, a to za použití tří různých šarží testovacích systémů ANCA IFA s formalínovou fixací. Šest pozitivních vzorků bylo také sériově ředěno a testováno se stejnými třemi šaržemi testovacího systému ANCA IFA s formalínovou fixací. Jamky na sklíčkách byly interpretovány všemi třemi výše uvedenými metodami. Výsledky z nařazených pozitivních vzorků a čtyř negativních vzorků tvořily

celkem 44 jamek, na kterých byla provedena analýza kvalitativní shody. Analýza shody obrazců barvení byla provedena u jamek, u nichž byla dosažena pozitivní shoda. U sériově řaděných vzorků byla rovněž stanovena konečná ředění.

Výsledky:

i. Kvalitativní Shoda:

Kvalitativní shoda – V rámci šarže						
Interpretace Metod	Šarže 1		Šarže 2		Šarže 3	
	% Shoda	95% CI	% Shoda	95% CI	% Shoda	95% CI
A vs B	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00
A vs C	88.64 (39/44)	76.02 – 95.05	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60	81.82 (36/44)	68.04 – 90.49
B vs C	88.64 (39/44)	76.02 – 95.05	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60	81.82 (36/44)	68.04 – 90.49

Kvalitativní shoda – Mezi šaržemi						
Interpretace Metod	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	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00
B vs B	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00
C vs C	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85
A vs B	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00
A vs C	84.09 (37/44)	70.63 – 92.07	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85	81.82 (36/44)	68.04 – 90.49
B vs C	84.09 (37/44)	70.63 – 92.07	79.55 (35/44)	65.50 – 88.85	81.82 (36/44)	68.04 – 90.49
B vs A	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	97.73 (43/44)	88.19 – 99.60	100.00 (44/44)	91.97 – 100.00
C vs A	88.64 (39/44)	76.02 – 95.05	88.64 (39/44)	76.02 – 95.05	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60
C vs B	88.64 (39/44)	76.02 – 95.05	88.64 (39/44)	76.02 – 95.05	86.36 (38/44)	73.29 – 93.60

ii. Shoda Vzorů:

Shoda vzorů – V rámci šarže						
Interpretace Metod	Šarže 1		Šarže 2		Šarže 3	
	% Shoda	(95% CI)	% Shoda	(95% CI)	% Shoda	(95% CI)
A vs B	100.00 (24/24)	86.20 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00
A vs C	65.00 (13/20)	43.29 – 81.88	78.95 (15/19)	56.67 – 91.49	100.00 (20/20)	83.89 – 100.00
B vs C	65.00 (13/20)	43.29 – 81.88	78.95 (15/19)	56.67 – 91.49	100.00 (20/20)	83.89 – 100.00

Shoda vzorů – Mezi šaržemi						
Interpretace Metod	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	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00
B vs B	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00
C vs C	70.59 (12/17)	46.87 – 86.72	66.67 (12/18)	43.75 – 83.72	82.35 (14/17)	58.97 – 93.81
A vs B	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00	100.00 (23/23)	85.69 – 100.00
A vs C	78.95 (15/19)	56.67 – 91.49	100.00 (20/20)	83.89 – 100.00	100.00 (20/20)	83.89 – 100.00
B vs C	78.95 (15/19)	56.67 – 91.49	100.00 (20/20)	83.89 – 100.00	100.00 (20/20)	83.89 – 100.00
C vs A	65.00 (13/20)	43.29 – 81.88	65.00 (13/20)	43.29 – 81.88	78.95 (15/19)	56.67 – 91.49
C vs B	65.00 (13/20)	43.29 – 81.88	65.00 (13/20)	43.29 – 81.88	78.95 (15/19)	56.67 – 91.49

i. Shoda titrů na koncovém bodě:

Koncové titry – Šarže 1*			
Sample	Method A	Method B	Method C**
PR3 (c-ANCA) Nizká pozitivita	1:40	1:40	1:40
MPO (p-ANCA) Nizká 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) Nizká pozitivita	1:40	1:40	1:160
MPO (p-ANCA) Nizká 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) Nizká pozitivita	1:40	1:40	1:80
MPO (p-ANCA) Nizká 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) Nizká pozitivita	1:40	1:40	1:40
MPO (p-ANCA) Nizká 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) Nizká pozitivita	1:40	1:40	1:320
MPO (p-ANCA) Nizká 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) Nizká pozitivita	1:40	1:40	1:160
MPO (p-ANCA) Nizká 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:

Sto padesát náhodně vybraných vzorků séra bylo získáno od zdravých dárců ze severovýchodní části Spojených států. Vzorky byly testovány při ředění 1:20 a interpretovány pomocí všech tří metod. Výsledky screeningového testu jsou shrnuty níže:

Sebia ANCA IFA Formalin – Referenční rozmezí (n = 150)			
Vzorek	Metoda A	Metoda B	Metoda C
Pozitivní	2*	2*	1
Negativní	148	148	148
Neurčitě	N/A	N/A	1**

* 1 z 2 ANA pozitivní podle HEp-2 IFA

** 1 z 1 ANA pozitivní podle HEp-2 IFA

d. Studie opakovatelnosti po dobu dvaceti dnů:

Bylo sestaveno následujících osm vzorků séra: Dva slabě pozitivní vzorky (~1:20–1:40 konečný titr); jeden s protilátkami proti PR3 (c-ANCA) a jeden s protilátkami proti MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 konečný titr); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 konečný titr); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a dále dva negativní vzorky. Všechny osm vzorků bylo testováno trojnásobně, při ředění 1:20 pro screening, jednou denně, během dvaceti různých dnů, pomocí testovacího systému ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech. Kvalitativní výsledky a vzory byly interpretovány dvěma technikami pro Metodu A a B a jedním přístrojem diFine pro Metodu C. Identita vzorků byla každý den před testováním zaslepena a náhodně seřazena nezávisle.

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 – 100 %)	60/60 – 100 % (94 – 100 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	53/60 – 88.3 % (77.8 – 94.2 %)
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	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	55/60 – 91.7 % (81.6 – 96.8 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	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 %)
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 – 100 %)	60/60 – 100 % (94 – 100 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	53/60 – 88.3 % (77.8 – 94.2 %)
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	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	55/60 – 91.7 % (81.6 – 96.8 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	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 %)
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	60/60 – 100 % (94 – 100 %)	60/60 – 100 % (94 – 100 %)	60/60 – 100 % (94 – 100 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	53/60 – 88.3 % (77.8 – 94.2 %)
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	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	55/60 – 91.7 % (81.6 – 96.8 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	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 %)
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 %)

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 % (94–100 %)	60/60 – 100 % (94–100 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	58/60 – 96.7 % (88.6–99.1 %)	53/60 – 88.3 % (77.8–94.2 %)	53/60 – 88.3 % (77.8–94.2 %)
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	59/60 – 98.3 % (91.1–99.7 %)	55/60 – 91.7 % (81.6–96.8 %)	55/60 – 91.7 % (81.6–96.8 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/60 – 98.3 % (91.1–99.7 %)	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 %)
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 % (94–100 %)	60/60 – 100 % (94–100 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	58/60 – 96.7 % (88.6–99.1 %)	53/60 – 88.3 % (77.8–94.2 %)	53/60 – 88.3 % (77.8–94.2 %)
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	59/60 – 98.3 % (91.1–99.7 %)	55/60 – 91.7 % (81.6–96.8 %)	55/60 – 91.7 % (81.6–96.8 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/60 – 98.3 % (91.1–99.7 %)	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 %)
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%)	110/120 – 91.7% (85.3 – 95.4%)	110/120 – 91.7% (85.3 – 95.4%)
PR3 (c-ANCA) středně pozitivní	120/120 – 100% (96.9 – 100%)	112/120 – 93.3% (87.4 – 96.5%)	112/120 – 93.3% (87.4 – 96.5%)
MPO (p-ANCA) středně pozitivní	120/120 – 100% (96.9 – 100%)	115/120 – 95.8% (91.7 – 98.7%)	115/120 – 95.8% (91.7 – 98.7%)
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	58/58 – 100% (88.6 – 99.1%)	58/58 – 100% (88.6 – 99.1%)	53/53 – 100% (92.4 – 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	59/59 – 100% (93.3 – 100%)	59/59 – 100% (93.3 – 100%)	55/55 – 100% (91.9 – 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/59 – 100% (93.3 – 100%)	59/59 – 100% (93.3 – 100%)	58/59 – 98.3% (91.0 – 99.7%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	56/58 – 96.6% (88.3 – 99.1%)

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	58/58 – 100% (88.6 – 99.1%)	58/58 – 100% (88.6 – 99.1%)	53/53 – 100% (92.4 – 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	59/59 – 100% (93.9 – 100%)	59/59 – 100% (93.9 – 100%)	55/55 – 100% (93.9 – 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/59 – 100% (93.9 – 100%)	59/59 – 100% (93.9 – 100%)	58/59 – 98.3% (91.0 – 99.7%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	60/60 – 100% (94 – 100%)	56/58 – 96.6% (88.3 – 99.1%)

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 %)	118/120 – 98.3 % (94.1 – 99.5 %)	118/120 – 98.3 % (94.1 – 99.5 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	116/116 – 100 % (95.8 – 100 %)	116/116 – 100 % (96.8 – 100 %)	106/106 – 100 % (96.5 – 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	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	110/110 – 100 % (96.6 – 100 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	116/118 – 98.3 % (94.0 – 99.5 %)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 – 100 % (96.9 – 100 %)	120/120 – 100 % (96.9 – 100 %)	112/118 – 94.9 % (89.4 – 97.7 %)

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	58/58 – 100% (88.6 – 99.1%)	53/53 – 100% (93.24 – 100%)	53/53 – 100% (93.24 – 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	59/59 – 100% (93.9 – 100%)	55/55 – 100% (93.5 – 100%)	55/55 – 100% (93.5 – 100%)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/59 – 100% (93.9 – 100%)	58/59 – 98.3% (91.0 – 99.7%)	58/59 – 98.3% (91.0 – 99.7%)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	60/60 – 100% (94 – 100%)	56/58 – 96.6% (88.3 – 99.1%)	56/58 – 96.6% (88.3 – 99.1%)

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 %)	60/60 – 100 % (94 – 100 %)	60/60 – 100 % (94 – 100 %)
MPO (p-ANCA) slabě pozitivní	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	58/60 – 96.7 % (88.6 – 99.1 %)	53/60 – 88.3 % (77.8 – 94.2 %)
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	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	55/60 – 91.7 % (81.6 – 96.8 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	59/60 – 98.3 % (91.1 – 99.7 %)	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	116/116 – 100 % (95.8 – 100 %)	116/116 – 100 % (96.8 – 100 %)	106/106 – 100 % (96.5 – 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	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	110/110 – 100 % (96.6 – 100 %)
PR3 (c-ANCA) vysoce pozitivní	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	118/118 – 100 % (96.9 – 100 %)	116/118 – 98.3 % (94.0 – 99.5 %)
MPO (p-ANCA) vysoce pozitivní	120/120 – 100 % (96.9 – 100 %)	120/120 – 100 % (96.9 – 100 %)	112/118 – 94.9 % (89.4 – 97.7 %)

e. Pětidenní studie reprodukovatelnosti na více pracovištích:

Bylo sestaveno následujících osm vzorků séra: Dva slabě pozitivní vzorky (~1:20–1:40 konečný titr); jeden s protilátkami proti PR3 (c-ANCA) a jeden s protilátkami proti MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 konečný titr); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 konečný titr); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a dále dva negativní vzorky. Všechny osm vzorků bylo testováno trojnásobně, při ředění 1:20 pro screening, dvakrát denně, během pěti různých dnů, třemi různými technikami, pomocí testovacího systému ANCA IFA na formalinově fixovaných preparátech. Ve třech různých laboratořích byly kvalitativní výsledky a vzory interpretovány dvěma technikami pro Metodu A a B a jedním přístrojem diFine pro Metodu C (celkem šest techniků a tři přístroje diFine). Identita vzorků byla každý den před testováním zaslepena a náhodně seřazena nezávisle.

Výsledky:**i. Shoda Kvalitativních Výsledků****a. V rámci metoda****Site 1 – Shoda kvalitativních výsledků v rámci metoda****Kvalitativní shoda výsledků v rámci metoda (Technik 1)**

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Kvalitativní shoda výsledků v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	28/30 – 93.3 % (78.7 – 98.2 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Site 2 – Shoda kvalitativních výsledků v rámci jedné metoda

Vnitřní-metodická kvalitativní shoda výsledků (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Vnitřní-metodická kvalitativní shoda výsledků (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	28/30 – 93.3 % (78.7 – 98.2 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Site 3 – Shoda kvalitativních výsledků v rámci jedné metoda

Vnitřní-metodická kvalitativní shoda výsledků (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Vnitřní-metodická kvalitativní shoda výsledků (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
Negativní-1	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
Negativní-2	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	28/30 – 93.3 % (78.7 – 98.2 %)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

b. Mezi Metodami:

Site 1 – Shoda kvalitativních výsledků mezi metodami

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	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) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	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) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	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

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	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) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	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) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	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

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	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) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
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 %)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	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) Nízká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)	30/30 – 100 % (88.7 – 100.0 %)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	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				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						240/240 – 100% (98.42 – 100.00)	

Reprodukovatelnost metoda B 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 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)		
	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							

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

		Site 1	Site 2	Site 3
		Metoda C		
Site 1	Metoda C		234/240 – 97.50% (94.65 – 98.85)	238/240 – 99.17% (97.01 – 99.77)
Site 2				235/240 – 97.92% (95.22 – 99.11)
Site 3				

ii. Shoda Výsledků Vzorů

a. V rámci Metoda

Site 1 – Shoda výsledků vzorů v rámci jedné metoda

Shoda vzorů v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Shoda vzorů v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Site 2 – Shoda výsledků vzorů v rámci jedné metoda

Shoda vzorů v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Shoda vzorů v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	26/30 – 86.7% (70.3 – 94.7%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	28/30 – 93.3% (78.7 – 98.2%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Site 3 – Shoda výsledků vzorů v rámci jedné metoda

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 1)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A
PR3 (c-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Mezi-metodická shoda kvalitativních výsledků (Technik 2)

Vzorek	Metoda A (95% CI)	Metoda B (95% CI)
Negativní-1	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A
PR3 (c-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Vzorek	Metoda C (95% CI)
Negativní-1	N/A
Negativní-2	N/A
PR3 (c-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)

b. Mezi Metodami:

Site 1 – Shoda výsledků vzorů mezi metodami

Shoda vzorů v rámci metoda (Technik 1)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Shoda vzorů v rámci metoda (Technik 2)

Vzorek	Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)	27/30 – 90.0% (74.4 – 96.5%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Site 2 – Shoda výsledků vzorů mezi metodami

Shoda vzorů 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)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	26/30 – 86.7% (70.3 – 94.7%)	26/30 – 86.7% (70.3 – 94.7%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	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) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Shoda vzorů 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)
PR3 (c-ANCA) Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	26/30 – 86.7% (70.3 – 94.7%)	26/30 – 86.7% (70.3 – 94.7%)
MPO (p-ANCA) Nízká pozitivita	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) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)

Site 3 – Shoda výsledků vzorů mezi metodami
Shoda vzorů 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)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A
PR3 (c-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)

Shoda vzorů 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)
Negativní-1	N/A	N/A	N/A
Negativní-2	N/A	N/A	N/A
PR3 (c-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Hraniční/Nízká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Střední pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
PR3 (c-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)
MPO (p-ANCA) Vysoká pozitivita	30/30 – 100% (88.7 – 100.0%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)	29/30 – 96.7% (83.3 – 99.4%)

Po sloučení výsledků, které vykazovaly pozitivní shodu u všech šesti vzorků, lze výsledky vzorů 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	
			MetodaA		MetodaA		MetodaA		
Site 1	Technik 1	MetodaA		179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	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				179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	180/180 – 100% (96.92 – 99.90)	
Site 2	Technik 1				179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	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	MetodaA						180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	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		179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	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				179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	180/180 – 100% (97.91 – 100.00)	179/180–99.44% (96.82 – 99.90)	180/180 – 100% (96.92 – 99.90)				
Site 2	Technik 1	Metoda B				179/180 – 99.44% (96.82 – 99.90)	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		170/173– 98.27% (95.03– 99.41)	175/178– 98.31% (95.16– 99.43)
Site 2				173/175– 98.86% (95.93– 99.69)
Site 3				

f. Studie Interference:

Bylo sestaveno následujících osm vzorků séra: Dva slabě pozitivní vzorky (~1:20–1:40 konečný titr); jeden s protilátkami proti PR3 (c-ANCA) a jeden s protilátkami proti MPO (p-ANCA). Dva středně pozitivní vzorky (~1:80–1:160 konečný titr); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA). Dva silně pozitivní vzorky (>1:160 konečný titr); jeden anti-PR3 (c-ANCA) a jeden anti-MPO (p-ANCA), a dále dva negativní vzorky. Těchto osm vzorků bylo obohaceno dvěma různými koncentracemi (nízkou a vysokou) devatenácti různých interferentů, jak je uvedeno v tabulce níže. Všechny vzorky byly testovány trojmo při ředění 1:20 a interpretovány pomocí všech tří výše uvedených metod. Kvalitativní výsledky a vzory 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

Žádný z interferentů neovlivnil očekávané výsledky u žádného z replikovaných testů při čtení metodami A a B. Metoda C poskytla kvalitativně správné výsledky, avšak vykazala několik nejistých výsledků u některých replikát pozitivních vzorků, stejně jako nesprávné výsledky vzorů u několika pozitivních replikát. Nicméně vzhledem k relativně nízké frekvenci těchto nesprávných výsledků u metoda C nelze usuzovat, že by byly důsledkem interference v testu, protože výsledky metod A a B byly ze 100 % přijatelné. Celkově lze uzavřít, že testovací systém ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech není ohrožen vznikem chybných výsledků v důsledku přítomnosti testovaných interferentů.

2. Studie Klinické Výkonnosti:

a. Popis Souboru

Přehled 583 klinicky charakterizovaných vzorků použitých v této studii je uveden v tabulce níže. Tyto vzorky byly před testováním rozděleny na alikvoty, zaslepeny a náhodně seřazeny. Všechny vzorky byly testovány třemi různými technikami při ředění 1:20 pomocí testovacího systému Sebia ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech a jedním technikem pomocí srovnávacího testovacího systému ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech. Kvalitativní výsledky a vzory pro testovací systém Sebia ANCA 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 vzory pro srovnávací testovací systém ANCA IFA byly interpretovány v jediné laboratoři pomocí Metoda A. Výsledky byly použity k vyhodnocení klinické specifity, klinické sensitivity, shody kvalitativních výsledků a shody vzorů mezi 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 IFA na formalínem fixovaných preparátech – Site 1

Site 1														
Diagnóza		n	Sebia ANCA IFA – Formalín											
			Metoda A				Metoda B				Metoda C			
			Technik A		Technik B		Technik A		Technik B		UNC-NEG		UNC-POS	
			n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz
ANCA- Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	110	89.43	104	84.55	107	86.99	104	84.55	102	82.93	105	85.37
	GPA	92	77	83.70	76	82.61	86	93.48	86	93.48	76	82.61	78	84.78
	eGPA	8	7	87.50	7	87.50	7	87.50	7	87.50	7	87.50	7	87.50
Kontrolní Onemocnění	Ne-ANCA-asociovaná vaskulitida	30	1	3.33	1	3.33	1	3.33	1	3.33	1	3.33	1	3.33
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67
	Revmatoidní artritida	30	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33
	Chronické onemocnění ledvin	30	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67	2	6.67
	Systémová skleróza	30	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33	4	13.33
	Systémový lupus erythematodes	30	13	43.33	13	43.33	13	43.33	13	43.33	13	43.33	13	43.33
	Dermatomyozitida/poly myozitida	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	Zánětlivé onemocnění střev	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	Sinusitida/alergická rýma	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	Infekční onemocnění	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	Astma/CHOPN	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	Rakovina	30	1	3.33	1	3.33	1	3.33	1	3.33	1	3.33	1	3.33
Celkem		583												

ii. Souhrn kvalitativních výsledků testovacího systému Sebia ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech - Site 2

Lokalita 1														
Diagnóza		n	Sebia ANCA IFA – Formalín											
			Metoda A				Metoda B				Metoda C			
			Technik A		Technik B		Technik A		Technik B		UNC-NEG		UNC-POS	
			n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz
ANCA-Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	115	93.50	117	95.12	116	94.31	117	95.12	103	83.74	110	89.43
	GPA	92	85	92.39	85	92.39	86	93.48	86	93.48	76	82.61	78	84.78
	eGPA	8	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00	7	87.50	7	87.50
Kontrolní Onemocnění	Ne-ANCA-asociovaná vaskulitida	30	1	3.33	0	0.00	1	3.33	1	3.33	0	0.00	0	0.00
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	4	13.33	3	10.00	4	13.33	4	13.33	1	3.33	2	6.67
	Revmatoidní artritida	30	8	26.67	7	23.33	7	23.33	7	23.33	4	13.33	5	16.67
	Chronické onemocnění ledvin	30	3	10.00	2	6.67	2	6.67	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Systémová skleróza	30	6	20.00	6	20.00	6	20.00	6	20.00	3	10.00	4	13.33
	Systémový lupus erythematoses	30	13	43.33	16	53.33	16	53.33	16	53.33	12	40.00	13	43.33
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	2	6.67	3	10.00	1	3.33	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Zánětlivé onemocnění střev	30	1	3.33	2	6.67	2	6.67	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Sinusitida/alergická rýma	30	0	0.00	2	6.67	2	6.67	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Infekční onemocnění	30	0	0.00	2	6.67	2	6.67	2	6.67	1	3.33	1	3.33
	Astma/CHOPN	30	0	0.00	117	95.12	116	94.31	117	95.12	103	83.74	110	89.43
	Rakovina	30	2	6.67	85	92.39	86	93.48	86	93.48	76	82.61	78	84.78
Celkem		583												

iii. Souhrn kvalitativních výsledků testovacího systému Sebia ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech - Site 3

Lokalita 1														
Diagnóza		n	Sebia ANCA IFA – Formalín											
			Metoda A				Metoda B				Metoda C			
			Technik A		Technik B		Technik A		Technik B		UNC-NEG		UNC-POS	
			n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz	n Poz	% Poz
ANCA-Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	115	93.50	117	95.12	116	94.31	117	95.12	103	83.74	110	89.43
	GPA	92	85	92.39	85	92.39	86	93.48	86	93.48	76	82.61	78	84.78
	eGPA	8	8	100.00	8	100.00	8	100.00	8	100.00	7	87.50	7	87.50
Kontrolní Onemocnění	Ne-ANCA-asociovaná vaskulitida	30	1	3.33	0	0.00	1	3.33	1	3.33	0	0.00	0	0.00
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	4	13.33	3	10.00	4	13.33	4	13.33	1	3.33	2	6.67
	Revmatoidní artritida	30	8	26.67	7	23.33	7	23.33	7	23.33	4	13.33	5	16.67
	Chronické onemocnění ledvin	30	3	10.00	2	6.67	2	6.67	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Systémová skleróza	30	6	20.00	6	20.00	6	20.00	6	20.00	3	10.00	4	13.33
	Systémový lupus erythematoses	30	13	43.33	16	53.33	16	53.33	16	53.33	12	40.00	13	43.33
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	2	6.67	3	10.00	1	3.33	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Zánětlivé onemocnění střev	30	1	3.33	2	6.67	2	6.67	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Sinusitida/alergická rýma	30	0	0.00	2	6.67	2	6.67	2	6.67	0	0.00	0	0.00
	Infekční onemocnění	30	0	0.00	2	6.67	2	6.67	2	6.67	1	3.33	1	3.33
	Astma/CHOPN	30	0	0.00	117	95.12	116	94.31	117	95.12	103	83.74	110	89.43
	Rakovina	30	2	6.67	85	92.39	86	93.48	86	93.48	76	82.61	78	84.78
Celkem		583												

iv. Souhrn kvalitativních výsledků srovnávacího testovacího systému ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech

Diagnóza		n	Predikát ANCA IFA – Formalín	
			Metoda A	
			n Poz	% Poz
ANCA-Asociovaná Vaskulitida	MPA	123	111	90.24 %
	GPA	92	80	86.96 %
	eGPA	8	7	87.50 %
Kontrolní Onemocnění	Ne-ANCA-asociovaná vaskulitida	30	1	3.33 %
	Autoimunitní onemocnění štítné žlázy	30	2	6.67 %
	Revmatoidní artritida	30	8	26.67 %
	Chronické onemocnění ledvin	30	1	3.33 %
	Systémová skleróza	30	6	20.00 %
	Systémový lupus erythematoses	30	13	43.33 %
	Dermatomyozitida/polymyozitida	30	1	3.33 %
	Zánětlivé onemocnění střev	30	1	3.33 %
	Sinusitida/alergická rýma	30	0	0.00 %
	Infekční onemocnění	30	0	0.00 %
	Astma/CHOPN	30	0	0.00 %
	Rakovina	30	0	0.00 %
Celkem		583		

c. **Klinická senzitivita a klinická specifita:**

Klinická senzitivita byla vypočtena na každém pracovišti pomocí kvalitativních výsledků získaných ze vzorků s vaskulitidou asociovanou s ANCA (n = 223). Specifita byla vypočtena ze souhrnného souboru kvalitativních výsledků získaných ze vzorků kontrolních onemocnění (n = 360).

i. **Testovací systém Sebia ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech**

Site	Technik	Interpretace	AAV (n = 223)		CD (n=360)	
			% Senzitivita	95% CI	% Specifita	95% CI
1	A	Metoda A	87.00	81.95 – 90.79	92.50	89.31 – 94.79
		Metoda B	87.89	82.96 – 91.54	93.06	89.95 – 95.25
	B	Metoda A	87.44	82.45 – 91.17	92.50	89.31 – 94.79
		Metoda B	87.00	81.95 – 90.79	93.06	89.95 – 95.25
	dlFine	Metoda C (NEURČ. = NEG)	84.75	79.45 – 88.88	94.44	91.58 – 96.38
		Metoda C (NEURČ. = POS)	86.55	81.44 – 90.41	93.61	90.06 – 95.71
2	A	Metoda A	87.00	81.95 – 90.79	93.89	90.92 – 95.93
		Metoda B	87.00	81.95 – 90.79	94.17	91.25 – 96.15
	B	Metoda A	84.30	78.95 – 88.49	95.00	92.24 – 96.81
		Metoda B	83.41	77.97 – 87.72	94.17	91.25 – 96.15
	dlFine	Metoda C (NEURČ. = NEG)	79.82	74.07 – 84.56	95.00	92.24 – 96.81
		Metoda C (NEURČ. = POS)	82.96	77.48 – 87.33	93.89	90.92 – 95.93
3	A	Metoda A	93.27	89.20 – 95.88	87.22	83.38 – 90.28
		Metoda B	94.17	90.28 – 96.56	87.50	83.68 – 90.53
	B	Metoda A	94.17	90.28 – 96.56	87.50	83.68 – 90.53
		Metoda B	94.62	90.83 – 96.90	87.22	83.38 – 90.28
	dlFine	Metoda C (NEURČ. = NEG)	83.41	77.97 – 87.72	94.17	91.25 – 96.15
		Metoda C (NEURČ. = POS)	87.44	82.45 – 91.17	93.06	89.95 – 95.25

ii. Srovnávací testovací systém ANCA IFA na formalínem fixovaných preparátech

Interpretace	AAV (n = 223)		CD (n = 360)	
	% Sensitivita	95% interval spolehlivosti	% Specificita	95% interval spolehlivosti
Metoda A	88.79 %	83.97 – 92.29	90.56 %	87.09 – 93.16

iii. Závěr ke klinické senzitivě a specifitě:

Hodnoty senzitivity pro kohortu AAV se pohybovaly v rozmezí od 82.96 % do 94.62 % napříč všemi třemi metodami a všemi třemi pracovišti. Klinická specificita mezi kohortou s kontrolními onemocněními se pohybovala od 87.22 % do 95.00 % napříč všemi třemi metodami a všemi třemi pracovišti. Při zprůměrování všech metod interpretace napříč všemi třemi pracovišti činila průměrná klinická senzitivita ve skupině AAV 87.34 % a klinická specificita ve skupině s kontrolními onemocněními 92.33 %. Vzhledem k tomu, že sérové vzorky AAV použité v této studii byly odebrány v době stanovení diagnózy, je zjištěná vysoká úroveň senzitivity v souladu s publikovanou literaturou^{15 16} a také se srovnávacím zařízením, které bylo testováno paralelně se stejnými vzorky. Naměřené hodnoty specifity jsou rovněž v souladu se shrnutími typu 510(k) pro podobná zařízení, stejně jako se srovnávacím zařízením testovaným paralelně na stejných vzorcích.

d. Shoda Mezi Metodami Interpretace:

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

i. Srovnání kvality – Metoda A vs. Metoda B

Metoda A vs Metoda B		Shoda Pozitivních Výsledků (95% CI)	Shoda Negativních Výsledků (95% CI)	Celková Shoda (95% CI)
Site 1	Technik A	218/221, 98.64% (96.09 – 99.54)	359/362, 99.17% (97.59 – 99.72)	577/583, 98.97% (97.77 – 99.53)
	Technik B	219/222, 98.65% (96.10 – 99.54)	361/361, 100.00% (98.56 – 100.00)	580/583, 99.49% (98.50 – 99.82)
Site 2	Technik A	215/216, 99.54% (97.42 – 99.92)	367/367, 100.00% (98.36 – 100.00)	582/583, 99.83% (98.93 – 99.97)
	Technik B	204/206, 99.03% (96.53 – 99.73)	374/377, 99.20% (97.62 – 99.73)	578/583, 99.14% (98.01 – 99.63)
Site 3	Technik A	253/254, 99.61% (97.80 – 99.93)	327/329, 99.39% (97.81 – 99.83)	580/583, 99.49% (98.50 – 99.82)
	Technik B	254/255, 99.61% (97.81 – 99.93)	325/328, 99.09% (97.35 – 99.69)	579/583, 99.31% (98.25 – 99.73)

ii. Souhrnná shoda kvalitativních výsledků pro Metodu A vs. Metodu B – Všechna Site / Všichni technici

Shoda Pozitivních Výsledků (95% CI)	Shoda Negativních Výsledků (95% CI)	Celková Shoda (95% CI)
1363/1374, 99.20 % (98.57 – 99.55)	2113/2124, 99.48 % (99.07 – 99.71)	3476/3498, 99.37 % (99.05 – 99.58)

iii. Srovnání kvality – Metoda A vs. Metoda C

Srovnání mezi Metodou A a Metodou C bylo provedeno dvakrát: jednou za předpokladu, že všechny výsledky Metoda C označené jako UNC (nejisté) byly považovány za negativní, a podruhé za předpokladu, že všechny výsledky UNC byly považovány za pozitivní.

Metoda A vs Metoda C (UNC = Neg)		Shoda Pozitivních Výsledek (95% CI)	Shoda Negativních Výsledků (95% CI)	Celková Shoda (95% CI)
Site 1	Technik A	208/221, 94.12% (90.20 – 96.53)	361/362, 99.72% (98.45 – 99.95)	569/583, 97.60% (96.01 – 98.56)
	Technik B	208/222, 93.69% (89.69 – 96.21)	360/361, 99.72% (98.45 – 99.95)	568/583, 97.43% (95.80 – 98.43)
Site 2	Technik A	196/216, 90.74% (86.13 – 93.93)	367/367, 100.00% (98.96 – 100.00)	563/583, 96.57% (94.76 – 97.77)
	Technik B	194/206, 94.17% (90.10 – 96.64)	375/377, 99.47% (98.09 – 99.85)	569/583, 97.60% (96.01 – 98.56)
Site 3	Technik A	207/254, 81.50% (76.26 – 85.79)	329/329, 100.00% (98.85 – 100.00)	536/583, 91.94% (89.44 – 93.88)
	Technik B	207/255, 81.18% (75.93 – 85.50)	328/328, 100.00% (98.84 – 100.00)	535/583, 91.77% (89.25 – 93.73)

Metoda A vs Metoda C (UNC = POS)		Shoda Pozitivních Výsledek (95% CI)	Shoda Negativních Výsledků (95% CI)	Celková Shoda (95% CI)
Site 1	Technik A	214/221, 96.83% (93.61 – 98.46)	360/362, 99.45% (98.01 – 99.85)	574/583, 98.46% (97.09 – 99.19)
	Technik B	214/222, 96.40% (93.05 – 98.16)	359/361, 99.45% (98.00 – 99.85)	573/583, 98.28% (96.87 – 99.07)
Site 2	Technik A	206/216, 95.37% (91.69 – 97.47)	366/367, 99.73% (98.47 – 99.95)	572/583, 98.11% (96.65 – 98.94)
	Technik B	202/206, 98.06% (95.11 – 99.24)	372/377, 98.67% (96.93 – 99.43)	574/583, 98.46% (97.09 – 99.19)
Site 3	Technik A	220/254, 86.61% (81.88 – 90.26)	329/329, 100.00% (98.85 – 100.00)	549/583, 94.17% (91.96 – 95.80)
	Technik B	220/255, 86.27% (81.51 – 89.96)	328/328, 100.00% (98.84 – 100.00)	548/583, 94.00% (91.77 – 95.65)

iv. Souhrnná shoda kvalitativních výsledků pro Metodu A vs. Metodu C – Všechna Site / Všechni technici

Metoda C (UNC = Neg)		
Pozitivní shoda (95% CI)	Negativní shoda (95% CI)	Celková shoda (95% CI)
1220/1374, 88.94 % (87.01 – 90.35)	2120/2124, 99.81 % (99.52 – 99.93)	3340/3498, 95.48 % (94.74 – 96.12)

Metoda C (UNC = Pozitivní)		
Pozitivní shoda (95% CI)	Negativní shoda (95% CI)	Celková shoda (95% CI)
1276/1374, 92.87 % (91.38 – 90.11)	2114/2124, 99.53 % (99.14 – 99.74)	3390/3498, 96.91 % (96.29 – 97.44)

v. Srovnání Kvality – Metoda B vs. Metoda C

Srovnání mezi Metodou B a Metodou C bylo provedeno dvakrát: jednou za předpokladu, že všechny výsledky Metoda C označené jako UNC (nejisté) byly považovány za negativní, a podruhé za předpokladu, že všechny výsledky UNC byly považovány za pozitivní.

Sébia ANCA IFA – Formalín				
Metoda B vs Metoda C (UNC = Neg)		Shoda Pozitivních Výsledk (95% CI)	Shoda Negativních Výsledků (95% CI)	Celková Shoda (95% CI)
Site 1	Technik A	208/221, 94.12% (90.20 – 96.53)	361/362, 99.72% (98.45 – 99.95)	569/583, 97.60% (96.01 – 98.56)
	Technik B	208/219, 94.98% (91.23 – 97.17)	363/364, 99.73% (98.46 – 99.95)	571/583, 97.94% (96.44 – 98.82)
Site 2	Technik A	196/215, 91.16% (86.61 – 94.27)	368/368, 100.00% (98.99 – 100.00)	564/583, 96.74% (94.97 – 97.96)
	Technik B	196/207, 94.69% (90.74 – 97.01)	376/376, 100.00% (99.02 – 100.00)	572/583, 98.11% (96.71 – 99.00)
Site 3	Technik A	207/255, 81.18% (75.93 – 85.50)	328/328, 100.00% (98.84 – 100.00)	535/583, 91.77% (89.19 – 93.74)
	Technik B	207/257, 80.54% (75.27 – 84.92)	326/326, 100.00% (98.84 – 100.00)	533/583, 91.42% (88.87 – 93.43)

Metoda B vs Metoda C (UNC = POZ)		Shoda pozitivních výsledk (95% CI)	Shoda negativních výsledků (95% CI)	Celková shoda (95% CI)
Site 1	Technik A	215/221, 97.29% (94.20 – 98.75)	361/362, 99.72% (98.45 – 99.95)	576/583, 98.80% (97.54 – 99.42)
	Technik B	214/219, 97.72% (94.77 – 99.02)	362/364, 99.45% (98.02 – 99.85)	576/583, 98.80% (97.54 – 99.42)
Site 2	Technik A	205/215, 95.35% (91.65 – 97.45)	366/368, 99.46% (98.04 – 99.85)	571/583, 97.94% (96.44 – 98.82)
	Technik B	205/207, 99.03% (96.55 – 99.73)	374/376, 99.47% (98.08 – 99.85)	579/583, 99.32% (98.25 – 99.73)
Site 3	Technik A	220/255, 86.27% (81.51 – 89.96)	328/328, 100.00% (98.84 – 100.00)	548/583, 93.84% (91.77 – 95.65)
	Technik B	220/257, 85.60% (80.79 – 89.37)	326/326, 100.00% (98.84 – 100.00)	546/583, 93.65% (91.37 – 95.36)

vi. Kombinovaná shoda kvalitativních výsledků mezi Metodou B a Metodou C – všechna Site / všichni technici

Metoda C (UNC = Neg)		
Pozitivní shoda (95% CI)	Negativní shoda (95% CI)	Celková shoda (95% CI)
1222/1374, 88.94 %	2122/2124, 99.91 %	3344/3498, 95.60 %
(87.17 – 90.49)	(99.66 – 99.97)	(94.87 – 96.23)

Metoda C (UNC = Pozitivní)		
Pozitivní shoda (95% CI)	Negativní shoda (95% CI)	Celková shoda (95% CI)
1279/1374, 93.09 %	2117/2124, 99.67 %	3396/3498, 97.08 %
(91.62 – 94.31)	(99.32 – 99.84)	(96.47 – 97.59)

vii. Shoda Vzorů – Jednotlivá Site

Shoda vzorů		Metoda A vs Metoda B (95% CI)	Metoda A vs Metoda C (95% CI)	Metoda B vs Metoda C (95% CI)
Site 1	Technik A	216/218, 99.08% (96.72 – 99.75)	199/208, 95.67% (91.98 – 97.71)	199/208, 95.67% (91.98 – 97.71)
	Technik B	218/219, 99.54% (97.46 – 99.92)	198/208, 95.19% (91.48 – 97.41)	199/208, 95.67% (91.98 – 97.71)
Site 2	Technik A	215/215, 100.00% (98.24 – 100.00)	189/196, 96.43% (91.82 – 98.36)	189/196, 96.43% (91.82 – 98.36)
	Technik B	204/204, 100.00% (98.15 – 100.00)	187/194, 96.39% (91.93 – 98.34)	189/196, 96.43% (91.82 – 98.36)
Site 3	Technik A	247/253, 97.63% (94.92 – 98.91)	198/207, 95.65% (91.24 – 97.95)	201/207, 97.10% (93.41 – 98.84)
	Technik B	243/254, 95.67% (92.41 – 97.56)	194/207, 93.72% (89.55 – 96.29)	198/207, 95.65% (91.94 – 97.70)

viii. Souhrnná shoda vzorů – 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)
1343/1363, 98.53 %	1165/1220, 95.49 %	1175/1222, 96.15 %
(97.74 – 99.05)	(94.18 – 96.52)	(94.92 – 97.10)

ix. Závěr ke Studiím Shody:

Ve všech případech byla shoda kvalitativních výsledků i vzorů mezi jednotlivými interpretačními metodami velmi vysoká, což naznačuje, že všechny tři metoda (manuální mikroskop, digitální čtení pomocí skeneru Sebia dIFine® a automatické vyhodnocení skenerem Sebia dIFine®) spolu dobře korelují a vykazují jen minimální rozdíly.

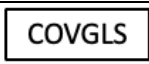
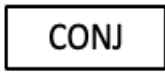
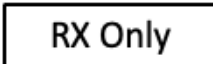
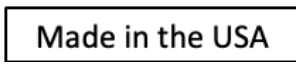
Celkově tato data prokazují, že automatické vyhodnocení pomocí Sebia dIFine® (Metoda C) souhlasí s Metodou A a/nebo Metodou B (neautomatizované metoda identifikace) u naprosté většiny vzorků. Nicméně konečné rozhodnutí zůstává vždy v odpovědnosti proškoleného pracovníka.

ODKAZ

1. Fijołek, Justyna, a Elżbieta Wiatr. „Antineutrofilní cytoplazmatické protilátky (ANCA) – jejich role v patogenezi, diagnostice a sledování léčby vaskulitid asociovaných s ANCA.” *Central European Journal of Immunology* 45, č. 2 (2020): 218–227. Publikováno online 9. července 2020.
2. Bacchięga, Ana Beatriz Santos, Manuella Lima Gomes Ochdrop, a Alexandre W. S. de Souza. „Systémová vaskulitida.” In *Autoimunita: Od laboratoře k lůžku*, editováno Anaya JM, Shoenfeld Y, Rojas-Villarraga A, et al. Bogota (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 anti-neutrofilní cytoplazmatické autoprotilátkové proteiny: baktericidní permeabilitu zvyšující protein, laktoferin, katepsin a elastáza jako sérologické markery idiopatických střevních a dalších onemocnění.” *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 asociovaných s ANCA: nově se objevující role imunometabolismu.” *Rheumatology Svazek* 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 mikrozikul.” *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. „Anti-neutrofilní cytoplazmatické autoprotilátky: metodologické aspekty a klinický význam u systémových vaskulitid.” *Autoimmunity Reviews Svazek* 12, číslo 4, strany 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 testů na ANCA u populace s klinickými příznaky naznačujícími autoimunitní onemocnění a interference ANA při jejich interpretaci.” *Reumatología Clínica Svazek* 16, číslo 6, strany 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. „Hodnocení kombinovaného použití formalinem a formaldehydem fixovaných neutrofilních substrátů pro identifikaci atypických perinukleárních anti-neutrofilních cytoplazmatických protilátek u idiopatických střevních onemocnění.” *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. *Perspektivy v renální medicíně*. Springer.
11. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: *Clin. Exp. Immunol.* 3:641, 1968.
12. Postupy pro odběr diagnostických vzorků krve venepunkcí. Druhé vydání: Schválený standard (1984). Vydáno Národním výborem pro standardy klinických laboratoří.
13. Postupy pro manipulaci a zpracování vzorků krve. Dokument NCCLS H18-A, Sv. 10, č. 12, Schválený návod, 1990.
14. Postupy pro manipulaci a zpracování vzorků krve pro běžné laboratorní testy; Schválené pokyny – 4. vydání (2010). Dokument CLSI GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
15. Khalid N, Aeddula NR. „Test na anti-neutrofilní cytoplazmatické protilátky (ANCA).” *StatPearls Publishing*, Treasure Island FL, (leden 2024).
16. Adél Molnár, Péter Studinger, Nóra Ledó. „Diagnostický a terapeutický přístup k ANCA-asociované glomerulonefritidě: přehled strategií řízení.” *Front. Med.* 9:884188, doi: 10.3389/fmed.2022.884188 (červen 2022).

SLOVNÍK SYMBOLŮ

Následující symboly mohly být použity v označení tohoto výrobku.

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
	Použit 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.