

Deutsch



Indirekter Immunfluoreszenz-Assay auf IgG antinukleäre Antikörper (ANA) HEp2

Die Tests sind für die *diagnostische Verwendung in vitro* bestimmt.

I-ANA01G 120 Tests

Verwendungszweck

Der indirekte Immunfluoreszenz-Assay (IFA) für IgG antinukleäre Antikörper (ANA) HEp2 von SCIMEDX CORP dient zum qualitativen und semi-quantitativen Nachweis von IgG (Immunglobulin G) antinukleären Antikörpern in Humanserum. Der Nachweis von ANA beim Menschen kann verwendet werden, um die Diagnose autoimmuner Bindegeweberkrankungen zu erleichtern.

Einführung und Übersicht über die Testverfahren

Systemische Autoimmunerkrankungen werden durch verschiedene Autoantikörper charakterisiert, die spezifisch für nukleäre und zytoplasmische Moleküle sind. Diese Moleküle sind an der DNA-Replikation, DNA-Transkription und der Messenger RNA (mRNA) Translation beteiligt. Die Autoantikörper werden infolge eines Ungleichgewichts im Immunregulations-System produziert, das meistens durch infektiöses Material verursacht wird (1–3). Die systemische Autoimmunität manifestiert sich entweder durch die direkten Auswirkungen dieser Autoantikörper oder durch Antigen-Antikörper-Ausscheidung (1).

Zirkulierende Serum-Autoantikörper gegen nukleäre Antigene (ANA) sind bei einer Vielzahl von Erkrankungen vorhanden, wie z. B. systemischer Lupus erythematoses (SLE), rheumatoide Arthritis, Lupus erythematoses discoides, Sklerodermie, Sjögren-Syndrom, Lebererkrankungen, Colitis ulcerosa und Myasthenia gravis. Ca. 5 % der asymptomatischen Patienten weisen signifikante Mengen an ANA auf (4,5).

Die indirekten Immunfluoreszenz-Antikörpertests (IFA) von Coons (6) wurden von Friou (7,8) für ANA-Tests angepasst. Inzwischen ist dies die bevorzugte Methode für Screening-Tests und die Quantifizierung von ANA (9). Durch die Verwendung eines Gewebekultursubstrats (HEp2) wird ein klares Spektrum an nukleären Färbemustern erzielt, die auf bestimmte Erkrankungen (10–15) hinweisen können. Diese Färbemuster können mit anderen Substraten nicht erzielt werden. Die HEp2-Zelllinie ist das empfohlene Substrat zum Nachweis von zentralen Antikörpern, die besonders bei der CREST-Variante von progressiver Sklerodermie (10) auftreten.

Gemischte ANA-Muster sind oft bei Seren mit rheumatischen Erkrankungen zu beobachten, da gleichzeitig mehrere ANAs im gleichen Serum (9) auftreten. Die IFA-Technik ist besonders geeignet, um Antigene im Nucleus, Nucleolus oder Zytoplasma (9) zu finden.

Testprinzip

Die Immunfluoreszenz-Antikörpertests von SCIMEDX Corp. verwenden die indirekte Methode zum Nachweis von Antikörpern und zur Titerbestimmung. Verdünnte Patientenserumproben werden in Zellkulturen mit inaktivierten Antigenen gegeben, die sich in farbmarkierten Kavitäten auf Glas-Objektträgern befinden. Während der 30-minütigen Inkubationszeit bilden für nukleäre Antigene typische Antikörper einen Antigen-/ Antikörperkomplex mit den nukleären Antigenen in den Zellen. Unspezifische Antikörper und andere freie Serumproteine werden in einem kurzen Waschvorgang entfernt. Fluoreszeinkonjugiertes Antihuman-IgG von der Ziege wird dann in die Kavitäten auf dem Glas-Objektträger gegeben. Das Anti-IgG-Konjugat vermischt sich während der 30-minütigen Inkubationszeit mit Human-IgG (falls vorhanden). Nach einem kurzen Waschvorgang zur Entfernung von freiem Konjugat werden die Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Eine positive Antikörperreaktion wird durch leuchtend grüne Fluoreszenz an den Antigenstellen charakterisiert.

Bestandteile des Testkits und Lagerbedingungen

ANA HEp2 Antigen-Objektträger: Objektträger mit HEp2 Zellen auf jeder Glaskavität. Die Objektträger sind gebrauchsfertig, sobald sie aus dem Beutel entfernt werden. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen sind die Objektträger bis zum auf dem Beutelticket angegebenen Verfallsdatum stabil.

ANA IgG positive Kontrolle: Jedes Fläschchen enthält 0,5 ml ANA IgG positive Humankontrolle. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung von 1:40 gebrauchsfertig. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen ist die flüssige positive Kontrolle bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

ANA IgG negative Kontrolle: Jedes Fläschchen enthält 0,5 ml ANA IgG negative Humankontrolle. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung von 1:40 gebrauchsfertig. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen ist die flüssige negative Kontrolle bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Fluoreszeinkonjugat: Jedes Fläschchen enthält 1,5 ml Fluoreszeinkonjugiertes (inaktiviertes) Antihuman-IgG von der Ziege (schwere und leichte Kette) mit Evans Blue und Rhodamin Gegenfärbung. Das Fluoreszeinkonjugat ist eine Konjugation aus mithilfe von Affinitätschromatographie gereinigtem Antihuman-IgG und Fluoreszein-Isocyanat (FITC). Durch das Hinzufügen von Evans Blue und Rhodamin Gegenfärbung zum Konjugat wird die nicht spezifische Fluoreszenz der Gewebekulturzellen maskiert. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung gebrauchsfertig. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen ist das flüssige Konjugat bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Deckglas-Eindeckmittel: Jedes Fläschchen enthält 2,0 ml phosphatpuffertes Glycerol mit Verblässungsschutz. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung gebrauchsfertig. Lagertemperatur: Kühlschrank bis Raumtemperatur (2–30 °C). Bei diesen Lagerbedingungen ist das Eindeckmittel bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Pulvergepufferte Kochsalzlösung (PBS): Jedes versiegelte aluminiumierte Päckchen mit Pulverpuffer reicht für 1 Liter 1x PBS aus. Lagertemperatur: Kühlschrank bis Raumtemperatur (2–30 °C). Den gesamten Inhalt eines PBS-Päckchens in 1 Liter frisch zubereitetes destilliertes oder deionisiertes Wasser geben. Hinweis: Schnelles Umrühren beim Hinzugeben der Salze erleichtert die Solubilisierung. PBS-Lösung bei 2–8 °C aufbewahren.

Spezielles Löschpapier: Saugfähiges Löschpapier hat vorgestanzte Löcher zum Trocknen der Objektträgermaske. Lagertemperatur: Kühlschrank bis Raumtemperatur (2–30 °C).

Zusätzlich erforderliche Materialien

- Reagenzgläser, Gestelle, Pipetten, Mikrotiterplatten und Sicherheits-Pipettiervorrichtungen zur Herstellung der Probenverdünnungen.
- Inkubator, 37 °C
- Feuchte Kammer zur Inkubation der Objektträger

- Objektträgergestell und Färbeschale zum Waschen der Objektträger
 - Deckgläser: 22 x 50 mm, Glas Stärke 1
- Fluoreszenzmikroskop: Ein Fluoreszenzmikroskop mit folgender Ausrüstung wurde zur Kalibrierung von Kontrollen und Konjugat verwendet:
- 10x Okular
 - 16x oder 40x Objektiv
 - Epi-Illuminator mit 50-W-Halogenlampe
 - FITC-Erregerfilter KP490
 - Gelb-Absorptionsfilter K530
 - Rot-Sperrfilter BG38
- Die Erregungsspitze der Fluoreszein-Markierung liegt bei 490 nm und die Emissionsspitze bei 520 nm. Unterschiede in Endpunkt-Reaktivität und Fluoreszenz-Intensität können auf Art und Zustand der im jeweiligen Labor verwendeten Fluoreszenzgeräte zurückzuführen sein.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

- IFA-Testkit:** Kein US-Standard für Stärke. Nur zur *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.
- Alle Komponenten des Kits bei der empfohlenen Lagertemperatur aufbewahren. **Nicht einfrieren.**
 - Komponenten nicht verwenden, wenn das Verfallsdatum überschritten ist.
 - SCIMEDX stellt alle aktiven Komponenten in jeder Charge der SCIMEDX IFA-Kits als eine optimierte Einheit zusammen. Komponenten von verschiedenen Chargen oder Quellen dürfen nicht zusammen verwendet werden.
 - Die Kontrollen und das Konjugat enthalten 0,095 % Natriumazid, das in Blei- bzw. Kupferleitungen explosive Verbindungen bilden kann, wenn es sich ansammelt. Wenn derartige Stoffe im Abfluss entsorgt werden, gründlich nachspülen.
 - Verwenden Sie getrennte Pipette Tips für jede Probe und Reagenz zu treffen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
 - Reagenzien geprüft werden sollen auf Anzeichen von Bakterien- oder Pilzbefall.

Antigen-Objektträger: Die Zellen auf allen IFA Antigen-Objektträgern sind fixiert und enthalten kein lebensfähiges infektiöses Material. Gute Laborpraxis (GLP) erfordert jedoch die gleiche umsichtige Handhabung und Entsorgung der Objektträger wie bei allen anderen potenziellen biologischen Gefahrstoffen im Labor.

- Die Objektträger erst kurz vor Gebrauch aus dem Schutzbeutel nehmen.
- Die mithilfe von Assays anderer Hersteller bestimmte Konzentration von Anti-ANA in bestimmten Proben kann aufgrund von Unterschieden in Assay-Methoden und Reagenz-Spezifität variieren.
- Nicht wiederverwenden Objektträger.

Humankontrollen: Die Humankontrollen in diesen Kits wurden alle mit von der FDA zugelassenen Methoden auf Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) und auf Antikörper gegen das humane Immunschwächevirus (HIV) getestet und für nicht reaktiv befunden. Kein Testsystem kann jedoch die Abwesenheit dieser Erreger garantieren. Daher sind alle Humanserumkomponenten, einschließlich der Proben, die Ihr Labor zum Testen erhält, als potenzielle biologische Gefahrstoffe zu handhaben. Richtlinien hierzu siehe Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 1993.

Xn – gefährlicher Stoff Sicherheitsvorkehrungen für Kontrollen und Konjugat:

Die Natriumazid-Konzentration in diesen Komponenten ist als gefährlich klassifiziert und unterliegt den folgenden Gefahrenhinweisen: „Gesundheitsschädlich beim Verschlucken“ und „Entwickelt bei Berührung mit Säure hochgiftige Gase“.

Entnahme, Lagerung und Einschränkungen der Testproben

- Das mit aseptischer Technik entnommene Serum von den roten Blutkörperchen trennen und einfrieren (–10 °C oder kälter), bis es getestet wird. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden. Empfehlungen zur Entnahme und Aufbewahrung von Blutproben wurden vom NCCLS aufgestellt: Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18A.
- Frische flüssige Serumproben können bei Bedarf maximal eine Woche lang bei 2–8 °C aufbewahrt werden, ohne dass die Aktivität der Antikörper beeinträchtigt wird.
- Keine hämolytierten, lipämischen oder ikterischen Proben verwenden.
- Keine Proben verwenden, die sichtbar kontaminiert sind.
- Serumproben dürfen vor der Verwendung nicht hitzeinaktiviert werden.
- Keine Antikoagulantien oder Konservierungsmittel in die Serumproben geben.

IFA-Verfahren

1. Für einen qualitativen IgG-Antikörper-Nachweis eine Screening-Lösung im Verhältnis 1:40 für jede Probe in phosphorgepuffertes Kochsalzlösung herstellen. Alle Verdünnungen in einem Mindestvolumen von 0,10 ml mit phosphorgepuffertes Kochsalzlösung als Verdünnungsmittel herstellen.
2. Für eine semiquantitative Titrierung der Seren eine zweifache Serenverdünnung der Serumprobe in PBS herstellen. Dabei mit einer Verdünnung von 1:40 beginnen und gleiche Mengen an verdünntem Serum oder Plasma und PBS für jede Verdünnung zugeben.
3. Die Objektträger aus dem Schutzbeutel nehmen und 1 Tropfen (ca. 20 µl) der verdünnten Proben in jede Kavität geben. Ausreichend Flüssigkeit zugeben, um alle Kavitäten zu füllen. Der Inhalt der Kavitäten darf sich jedoch nicht vermischen. Hinweis: Der tägliche Testlauf erfordert je eine Kavität für die positive Kontrolle, negative Kontrolle und PBS (Konjugatkontrolle). Die positive und negative Kontrolle sind bereits Screening-Lösungen von 1:40 und müssen nicht weiter verdünnt werden.
4. Die Objektträger 30 Minuten lang bei 37 °C in einer feuchten Kammer inkubieren.
5. Die Objektträger in einem dünnen Strahl Pufferlösung spülen. Den Strahl nicht direkt auf die Kavitäten richten.
6. Die Objektträger 10 Minuten lang waschen. Dabei die PBS-Lösung nach 5 Minuten wechseln. Die Objektträger mit dem Gestell in der Pufferlösung auf und ab bewegen.
7. Die Farbmaske um die Kavitäten mit dem speziellen Löschpapier abtupfen.
8. Einen Tropfen des gebrauchsfertigen Konjugats in jede Kavität geben.
9. Die Schritte 4 (Inkubation), 5 (PBS-Spülung), 6 (10-minütige PBS-Wäsche) und 7 (Abtupfen) wiederholen.
10. Das Glycerol-Eindeckmittel und das Deckglas (22 x 50 mm) anbringen.
11. Die Reaktivität bei 200–500-facher Vergrößerung unter dem Fluoreszenzmikroskop beobachten. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Objektträger direkt nach Abschluss des Tests untersucht werden. Für gleichwertige Ergebnisse die Objektträger versiegelt oder feucht aufbewahren, um den Feuchtigkeitsverlust des Eindeckmittels zu minimieren. Im Dunkeln bei 2–8 °C aufbewahren und innerhalb von 3 Tagen die Ergebnisse ablesen. Eine positive Reaktivität kann durch eine intensive bis schwache Fluoreszenz gekennzeichnet sein. Die Fluoreszenzreaktion nach der folgenden Intensitätsskala bewerten: 4⁺ (intensiv), 3⁺ (leuchtend), 2⁺ (mäßig), 1⁺ (schwach).

Auswertung der Ergebnisse

- Eine leuchtend grüne fluoreszierende Färbung der Zellkerne in einem klaren Fluoreszenzmuster weist auf eine ANA-positive Reaktion hin. Proben, die bei einer Verdünnung von 1:40 positiv reagieren, sollten bis zur Endpunkt-Verdünnung titriert werden. In einer Titrierungsreihe gilt die höchste Serumverdünnung, bei der eine Reaktion von 1+ eintritt, als Endpunkt. Folgende nukleäre Fluoreszenzmuster sind zu beobachten:

Muster	Charakteristika	Entsprechende Erkrankungen
Homogen	Diffuse Färbung des gesamten Zellkerns infolge einer Antikörperreaktion mit DNA-Nucleoprotein-Histonkomplexen (15)	Systemischer Lupus erythematodes (SLE) Rheumatoide Arthritis
Gesprenkelt	Farbflecken im gesamten Nucleus infolge von Antikörpern gegen Sm, RNP, SSA oder SSB (16, 17)	Sklerodermie Raynaud-Syndrom Sjögren-Syndrom Mischkollagenose (Sharp-Syndrom)
Nukleolar	Färbung der Nukleoli infolge von Antikörpern gegen RNA-Nucleoproteinkomplexe	Sklerodermie
Peripher	Färbung der Kernmembranen infolge von Antikörpern gegen DNA (18, 19)	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)
Antizentromer	Färbung der zentromeren Bereiche der Chromosomen infolge einer Reaktion mit einem fest an zentromere DNA gebundenen Protein (9, 10)	CREST-Syndrom Variante progressiver Sklerodermie

- Die Abwesenheit eines spezifischen Fluoreszenzmusters im Zellkern weist auf eine ANA-negative Reaktion hin.

Bedeutung der Auswertung

Keine feststellbare Fluoreszenz der Zellkerne mit der Screening-Lösung	Probe ist negativ für IgG ANA
Spezifische positive Fluoreszenz der Zellkerne mit der Screening-Lösung oder bei höheren Verdünnungen	Probe ist positiv für IgG ANA

Qualitätskontrolle

- Zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Funktion des Tests mindestens einmal täglich die positive und negative Kontrolle verwenden. Wenn die erwarteten Ergebnisse für die Kontrollen nicht erzielt werden, sind die Ergebnisse ungültig, und der Test muss wiederholt werden.
- Art und Alter des Fluoreszenzmikroskops sowie die Betriebsstunden der UV-Lampe können die Fluoreszenzintensität und die Titrierungs-Endpunkte bis zu einem gewissen Grad beeinflussen. Die in diesem Kit enthaltene ANA-positive Kontrolle wird in einer Gebrauchsverdünnung abgepackt, die eine Intensitätsreaktion von 3⁺ bis 4⁺ aufweist. Auf dem Fläschchen ist ein Titer angegeben, der als zusätzliche Prüfung für das Testsystem verwendet werden kann (siehe 1⁺ Verdünnungshinweis). Dieser ist als Kalibrator für die 3⁺ zu 4⁺ Intensitätsreaktion auf Ihrem Mikroskop zu verwenden.
- Die im Kit enthaltene ANA-negative Kontrolle als Kalibrator für eine negative Reaktion mit Ihrer Ausrüstung verwenden.
- Der tägliche Testlauf sollte eine PBS-Kavität anstelle einer Probe enthalten. Dies ist eine Konjugatkontrolle, mit der gewährleistet wird, dass das Konjugat nicht mit dem Zellsubstrat reagiert.
- Zusätzliche Kontrollen können gemäß den Richtlinien bzw. den Anforderungen lokaler oder staatlicher Vorschriften bzw. Zulassungsbehörden mitgeführt werden. Richtlinien zu den geeigneten Verfahren zur Qualitätskontrolle siehe NCCLS-Dokument C24-A, Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions.

1⁺ Verdünnungshinweis

Die in diesem Kit enthaltene positive Kontrolle wird in einer Screening-Verdünnung abgepackt, die beim Testen eine Intensitätsreaktion von 3⁺ bis 4⁺ aufweist. Um eine Fluoreszenzintensität von 1⁺ zu erhalten, eine zweifache Verdünnung mit dem Titer herstellen, der auf dem in diesem Kit enthaltenen Fläschchen angegeben ist. Die positive Kontrolle beim ersten Gebrauch des Kits titrieren.

Der beim Test erhaltene Titer kann sich aus mehreren technischen Gründen vom angegebenen Endpunkt-Titer unterscheiden. Es ist am besten, den auf dem Fläschchen angegebenen Titer zu verwenden sowie die zweifache Verdünnung direkt vor und nach dem angegebenen Titer. Für einen Endpunkt-Titer (1⁺) erzielte Ergebnisse sind normalerweise für verschiedene Labors unterschiedlich. Dies liegt an Faktoren, die die Fluoreszenzintensität beeinflussen. Diese Faktoren sind u. a.:

- die Nennleistung der UV-Lichtquelle im Mikroskop
- die Art der Lichtquelle
- das Alter der Lampe
- die Länge des optischen Pfads im Mikroskop und die Art der verwendeten optischen Filter
- die Genauigkeit der Verdünnungstechniken und die verwendete Ausrüstung

Einschränkungen des Verfahrens

- Es sollte grundsätzlich nicht nur ein einzelner serologischer Nachweis als einziges Erkennungskriterium verwendet werden. Alle verfügbaren klinischen und Labordaten sollten in die Diagnose einbezogen werden.
- Patienten mit SLE oder anderen Autoimmunerkrankungen können je nach klinischem Stadium der Erkrankung sehr unterschiedliche ANA-Titer aufweisen. Daher ist der ANA-Titer in der Regel nicht hilfreich bei der Unterscheidung der Krankheitszustände. Hohe ANA-Titer (1:1280 oder höher) können jedoch als Nachweis für Mischkollagenose, SLE oder Sklerodermie dienen, besonders wenn nukleolare, gesprenkelte oder periphere Färbemuster beobachtet werden.
- Es wurde festgestellt, dass verschiedene Medikamente antinukleäre Antikörper beim Patienten erzeugen können (z. B. Procainamid, Hydralazin, orale Verhütungsmittel, Diphenylhydantoin, Mephenytoin und einige Antibiotika). Dies ist wichtig bei der Bestimmung des Erkrankungsnachweises.
- Geringe Titer antinukleärer Antikörper können bei gesunden Personen auftreten. Bei Personen, die gesund erscheinen, kann ANA im Serum enthalten sein. Dieser Prozentsatz nimmt mit dem Alter zu, besonders bei Personen über 60 (5, 22).
- Wenn eine Probe positive Ergebnisse für mehr als ein Muster aufweist, kann ein Muster das andere teilweise oder vollständig verdecken. In diesem Fall muss das Serum titriert werden.

- SLE-Patienten, die mit Steroiden behandelt werden, können negative Testergebnisse aufweisen.
- Dieser Test sollte an Serum durchgeführt werden. Die Verwendung an anderen Materialien wurde noch nicht untersucht.

Referenzwerte

Die Prävalenz von Antikörpern gegen ANA IgG sollte in der gesunden Population gleich Null sein. Bei asymptomatischen Personen, die gesund erscheinen, kann ANA im Serum enthalten sein. Dieser Prozentsatz nimmt mit dem Alter zu, besonders bei Personen über 60. Um die Prävalenz von ANA bei der normalen Population zu demonstrieren, wurden Seren von 99 normalen Personen verschiedenen Alters und Geschlechts und aus verschiedenen geographischen Regionen mit dem SCIMEDXAnti-ANA IFA-Test getestet. Achtundachtzig Proben wiesen negative Ergebnisse für IgG-Antikörper gegen ANA auf (88,9 %). Elf Proben wiesen positive Ergebnisse für IgG-Antikörper gegen ANA auf (11,1 %).

Altersgruppe	Proben gesamt	Positiv	Prävalenz
12-19	20	1	5 %
20-29	10	0	0 %
30-39	16	2	12,5 %
40-49	13	1	7,7 %
50-59	10	0	0 %
60-69	10	1	10,0 %
>70	20	6	30,0 %
Gesamt	99	11	11,1 %

Um die Prävalenz von ANA bei einer Population von SLE-Patienten nachzuweisen, wurden Seren von 100 SLE-Patienten mit dem SCIMEDXAnti-ANA IFA-Test getestet. Zweihundneunzig Proben wiesen positive Ergebnisse für IgG-Antikörper gegen ANA auf (92 %). Acht Proben wiesen negative Ergebnisse für IgG-Antikörper gegen ANA auf (8 %).

Leistungscharakteristika

Relative Sensitivität und Spezifität: Das PANBIO, Inc. ANA IFA-Kit wurde im Vergleich mit einem im Handel erhältlichen ANA IFA-Kit bewertet. Die Proben waren eingefrorene retrospektive Seren. Einhundert Seren stammten von Patienten, bei denen SLE diagnostiziert wurde. Neunundneunzig Seren stammten von normalen Personen unterschiedlichen Alters, Geschlechts und geographischer Herkunft. Die Gesamt-Übereinstimmung betrug 188/197 bzw. 95 %. Die untenstehende Tabelle enthält eine Zusammenfassung der Daten.

Alternativer IFA-Test	ANA-Status	Positiv	Negativ	Gesamt
	Positiv	100*	7	107
Negativ	2	88	90	
Gesamt	102	95	197	

*98/100 positive Seren weisen bei beiden Assays das gleiche Muster auf. 2/100 Proben wiesen unterschiedliche Muster auf. Bitte beachten Sie, dass sich der Begriff „relativ“ auf den Vergleich der Ergebnisse dieses Assays mit denen eines ähnlichen Assays bezieht. Es wurde nicht versucht, die Ergebnisse des Assays mit der Anwesenheit oder Abwesenheit der Krankheit zu korrelieren. Die Vorhersagegenauigkeit des Vergleichsassays für die Krankheit kann nicht beurteilt werden.

Titer-Übereinstimmung: Fünfundzwanzig positive Seren wurden nacheinander zweifach verdünnt und der Endpunkt-Titer wurde mit dem SCIMEDXANA IFA-Test sowie einem im Handel erhältlichen ANA IFA-Test bestimmt. Folgende Ergebnisse wurden für den Endpunkt-Titer erzielt:

Identischer Titer	12/25
± eine zweifache Verdünnung	11/25
± zwei zweifache Verdünnungen	2/25

Reproduzierbarkeit: Drei positive Seren mit verschiedenen Titern (1:80, 1:640, 1:2560) und ein negatives Serum wurden nacheinander verdünnt und jede Probe wurde dreimal mit drei verschiedenen Assays getestet und der Endpunkt bestimmt. Alle Endpunkt-Titer lagen innerhalb der Spezifikationen für ± eine zweifache Verdünnung. Siehe folgende Tabelle.

Identischer Titer	35/36
± eine zweifache Verdünnung	1/36

Echtzeitstabilität: Die Echtzeitstabilität der Komponenten des Kits wurde mindestens 24 Monate lang in Abständen von 6 Monaten getestet. Die Endpunkt-Titer der positiven und negativen Kontrollen wurden mit den anfänglichen Endpunkt-Titern verglichen. Akzeptabel sind Endpunkt-Titer innerhalb einer zweifachen Verdünnung voneinander. Diese Ergebnisse lagen innerhalb der Spezifikationen.

Objekträger-Charge	Kontrolle	Anfänglicher Endpunkt-Titer	Endpunkt-Titer nach 24 Monaten
Nr. 1	Positiv	1:1280	1:1280
	Negativ	-	-
Nr. 2	Positiv	1:1280	1:640
	Negativ	-	-
Nr. 3	Positiv	1:1280	1:640
	Negativ	-	-

SCIMEDX CORPORATION
53 Hitchbottom Rd
Dover, NJ 07801 USA
Tel: 800.221.5598 Tel: 973.625.8822
Fax: 973.625.8796
www.scimedx.com

EC	REP	Medimark Europe 11, rue Zola - BP 2332 F-38033 Grenoble Cedex 2 - France
----	-----	--

