



A x i s - S h i e l d

Anti-CCP

IVD

Σ
96

REF FCCP600

Sadece profesyonel kullanım içindir



Axis-Shield Diagnostics Limited

The Technology Park, Dundee DD2 1XA, Birleşik Krallık.

Tel: +44 (0) 1382 422000, *Faks:* +44 (0) 1382 422088.

E-posta: shield@axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com

Axis-Shield Anti-CCP testi, insan serumunda (Serum Separatör Tüpleri dahil) veya plazmada (EDTA, lityum heparin veya sodyum sitrat) sirküler sitrulin peptide (CCP) özgü IgG sınıfı otoantikörlerin tespit edilmesine yönelik yarı kantitatif/kalitatif enzim bağlı immunosorban bir testtir. Anti-CCP antikörlerin tespit edilmesi, Romatoid Artrit (RA) tanısına yardımcı olması için kullanılmaktadır ve diğer klinik bilgilerle birlikte kullanılmalıdır. Otoantikör düzeyleri, klinik ve laboratuvar temelli değerlendirmeleri kapsayan çok kriterli tanılama sürecindeki parametrelerden biridir. In vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

GİRİŞ

Romatoid Artrit (RA), yetişkin nüfusun %0,5-1,0'ini etkileyen yaygın, sistemik bir otoimmün hastalıktır. RA, progresif eklem tahribatına ve çoğu vakada sakatlanma ve yaşam kalitesinin azalmasına neden olabilen kronik sinovyum enflamasyonu ile karakterizedir.¹ Genel olarak, erken müdahalenin geri döndürülemez eklem hasarının önlenmesinde yaşamsal önemde olduğu kabul edilir ve dolayısıyla RA'nın hastalığın seyrinde mümkün olduğunca erken tanınması çok önemlidir.^{2,3} RA tanısı aslen klinik, radyolojik ve immunolojik özelliklere bağlıdır. En sık kullanılan serolojik test, romatoid faktör (RF) ölçümüdür.⁴ RF testinin hassasiyeti yüksek olmakla birlikte, sağlıklı bireylerde ve diğer romatik veya enflamatuar hastalıklar, otoimmün hastalıklar veya kronik enfeksiyonların bulunduğu hastalarda da görüldüğünden, RA için spesifik değildir.⁵

Yıllar boyunca, anti-perinükleer faktör (APF) ve keratin (AKA) antikörlerinin RA için son derece spesifik olduğu kabul edilmiştir. Daha sonraları, bu antikörlerin ikisinin de natif filagrinle reaksiyona girdiği tespit edilmiştir ve söz konusu antikörler, anti-filagrin antikörler (AFA) olarak adlandırılmaya başlamıştır.^{6,7,8} Yakın tarihli kanıtlar, bu antikörlerin tümünün sitrulin içeren epitoplara yöneldiğini göstermektedir.⁹ Sitrulin, protein sentezi sırasında proteinler tarafından içerilmediğinden standart dışı bir amino asittir. Ancak, arginin kalıntılarının peptidilarginin deiminaz (PAD) enzimi tarafından gerçekleştirilen çevrim sonrası değişimiyle üretilebilmektedir.¹⁰ 1998 yılında, Schellekens ve çalışma arkadaşları ELISA temelli bir testte, sitrulin içeren lineer sentetik peptitlere duyarlı otoantikörlerin RA için son derece spesifik olduğunu tespit etti.¹¹ Sonraki çalışmalar, bu lineer peptitlerin sirküler sitrulin peptitler (CCP) olarak adlandırılan sirküler varyantlarının da RA için spesifik olduğunu ve lineer peptitlerden daha hassas olduğunu kanıtladı.¹² CCP testinin hassasiyetini daha da artırmak amacıyla, sitrulin içeren peptitlere özgü bir kitaplık RA serumuyla tarandı ve CCP1 testiyle karşılaştırıldığında üstün performans sağlayan yeni bir dizi peptit (CCP2) keşfedildi.¹³ Son birkaç yılda yayımlanan pek çok rapor, CCP2 testinin tanılama performansını doğrulamıştır.¹⁴ Anti sitrulin protein/peptit antikörleri (ACPA) olarak da adlandırılan anti-CCP antikörlerinin hastalığın çok erken safhasında, genellikle klinik semptomların yokluğunda görüldüğü bulunmuştur ve pek çok rapor, anti-CCP antikör düzeylerindeki artışın erozif hastalığın gelişimini öngörebileceğini göstermektedir.^{15,16,17,18,19,20} Bu bulgular, sirküler sitrulin peptitlerin hastalığın seyrinin erken bir aşamasındayken RA tanısında önemli bir role sahip olduğuna işaret etmektedir.







2010 yılında, *ACR / EULAR Romatoid Artrit Sınıflandırma Kriterleri* yayımlanmış ve erken RA tanısı için uygun bulunmayan 1987 tarihli "eski" ACR kriterlerinin yerini almıştır. Amerikan Romatoloji Derneği (ACR) ve Avrupa Romatizma Birliği (EULAR) tarafından ortaklaşa yayımlanan gözden geçirilmiş sınıflandırma kriterleri, 0 ile 10 arasında bir puanlama sistemi önermektedir. Yeni sınıflandırma kriterleri, definitif sinovit (farklılaşmamış enflamatuar Artrit) gösteren her bireye uygulanacaktır. Dört ek kriter, ilgili eklemlerin sayısı, serolojik anormallik, akut faz yanıtı ve ilgili eklemlerdeki semptomların süresidir. Serolojik kriterler ilk kez anti-CCP gibi ACPA'ların ölçümünün yanı sıra, düşük pozitif ve yüksek pozitif seroloji sonucunun tanımını içermektedir.²¹

Axis-Shield Anti-CCP testi, insan serumunda veya plazmada modifiye arginin kalıntıları içeren sentetik sirküler peptide (CCP2 peptitler) yönelik otoantikörlerin tespit edilmesine dayalı bir ELISA testidir. Test, RA'lı hastaların tanısı için ek bir araç sağlamaktadır.

TEST PRENSİBİ

Mikrotitre striplerin kuyucukları, modifiye arginin kalıntıları içeren ileri derecede arıtılmış sirküler sitrulin peptitle kaplıdır. İlk inkübasyon sırasında, seyreltik serum veya plazmadaki spesifik otoantikörler antijen kaplı yüzeye bağlanır. Daha sonra, bağlanmayan bileşenlerin atılması için kuyucuklar yıkanır. İkinci inkübasyonda, insan IgG'sine duyarlı enzim işaretli poliklonal bir antikör olan Konjugat, yüzeye bağlı otoantikörlere bağlanır. Yeniden yıkama sonrasında, Substratla inkübasyon sonucunda spesifik antikörler bulunur. Stop Solüsyonunun eklenmesi reaksiyonu sona erdirerek renkli bir son ürüne yol açar ve bağlı Konjugat miktarı absorban üniteleriyle ölçülür. Kalitatif protokolde, numune bağlı Konjugat miktarı, Referans Kontrolündeki bağlı Konjugat miktarıyla karşılaştırılır. Yarı kantitatif protokolde, anti-CCP otoantikör konsantrasyonu, Kalibratörlere bağlı bir doz yanıtı eğrisinden interpolasyonla tahmin edilebilir.

KİT BİLEŞENLERİ

CONJ	1 x 15,0 mL	HEPES tampon çözeltide insan IgG'sine karşı yaban turpu peroksidaz işaretli keçi poliklonal antikor, %0,1 (a/h) p-hidroksifenilasetik asit, %0,15 (a/h) ProClin ve %1 protein (sığır) stabilizörü (a/h). Kullanıma hazır. TEHLİKE.	
SUBS	1 x 15,0 mL	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin, tampon çözelti. Kullanıma hazır. Işıktan uzakta muhafaza edin. TEHLİKE.	 
SOLN STOP	1 x 15,0 mL	Sülfürik asit 0,25 mol/L sulu çözelti Kullanıma hazır. UYARI.	
BUF WASH 10 X	3 x 25,0 mL	Fosfat tamponlu tuzlu su, %1,3 (h/h) Tween 20 Kullanmadan önce seyreltin.	
MTP 8 x 12	8 x 12 kuyucuklu mikrotitre (ayrılabilir) strip	Kurutuculu açılıp kapanabilir folyo ambalajda, sentetik sirküler sitrulin peptit kaplı.	
SAMPLE DIL 5 X	1 x 25,0 mL	Fosfat tamponu, protein (sığır) stabilizörü, %0,5 (a/h) sodyum azit. Kullanmadan önce seyreltin. UYARI.	 
CAL 1	1 x 1,0 mL	Fosfat tamponu, protein (sığır) stabilizörü, < %0,1 (a/h) sodyum azit. 0 U/mL. Kullanıma hazır.	
CAL 2 - CAL 6	5 x 1,0 mL	İnsan plazması, fosfat tamponu, protein (sığır) stabilizörü, < %0,1 (a/h) sodyum azit. 2, 8, 30, 100, 300 U/mL. Kullanıma hazır.	
CONTROL REF	1 x 1,5 mL	İnsan plazması, tampon, < %0,1 (a/h) sodyum azit. Kullanıma hazır.	
CONTROL +	1 x 0,3 mL	İnsan plazması, < %0,1 (a/h) sodyum azit. Kullanmadan önce seyreltik Numune Seyrelticiyle numuneler için olduğu gibi 1:100 oranında seyreltin.	
CONTROL -	1 x 0,3 mL		

REAKTİFLERİN MUHAFAZASI

Açılan Kitin Stabilitesi

Bir kit açılarak üç aylık bir süre içinde üç kez yeniden kullanılmış, kit performansında hiçbir olumsuz etki görülmemiştir. Kullanımdan sonra bileşenler yeniden 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilmelidir.

Kullanım ve Prosedüre İlişkin Notlar

1. Kit bileşenlerini 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin ve etiketlerdeki son kullanma tarihine kadar kullanın. Süresi dolmuş reaktifleri kullanmayın.
2. Farklı lot numaralarını karıştırmayın.
3. Kitleri dondurmuyun.
4. Yıkama Tampon Konsantresi, Numune Seyreltici Konsantre ve Pozitif ve Negatif Kontroller, kullanmadan önce seyreltilmelidir. Diğer tüm reaktifler kullanıma hazırdır.
5. Seyreltik Yıkama Tamponu ve seyreltik Numune Seyrelticinin mikrobik kontaminasyonunun önlemediğinden emin olun ve test sonrasında yeniden 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin.
6. Artık (kullanılmamış) mikrotitre stripleri kurutuculu folyo ambalaja geri koyun. Ambalaj mührünün bozulmadığından emin olun ve ihtiyaç duyulana kadar yeniden 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin.
7. Substratı ışıktan uzakta muhafaza edin.
8. Reaktifleri kontaminasyondan koruyun. Her bir reaktif veya numune manipülasyonu için yeni bir tek kullanımlık pipet kullanın.

Bozulma Göstergeleri

Substrat, renksiz ile çok uçuk mavi renk arasında olmalıdır. Herhangi bir bileşende turbidite veya presipitasyon, bozulma göstergesidir ve bileşen atılmalıdır.

Soğuk muhafaza alanından çıkarıldığında yıkama veya numune seyrelticide kristaller görülürse, bunlar ters çevirme ve oda sıcaklığıyla eşitleme sonrasında çözülecektir.

Numune Alma ve Muhafaza Etme


Test, insan serumu (serum ayırıcı tüpü (SST) dahil) veya plazma (EDTA, lityum heparin veya sodyum sitrat) numuneleri için önerilir. Diğer tüp tiplerinin testte kullanımı test edilmemiştir. Ağır derecede hemolize veya bulanık numuneleri kullanmayın. Buzu çözülmüş numuneleri test öncesinde iyice karıştırın ve sürekli dondurup çözmekten kaçının. Numuneleri ısıyla etkisizleştirmeyin, aksi takdirde yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilir.

Toplama tüplerini analize hazırlamak için, tüp üreticisinin talimatlarını uygulayın. Numuneler 2-8°C sıcaklıkta seyreltilmeden dört hafta boyunca muhafaza edilebilir; daha uzun süreyle muhafaza etmek için -20°C veya daha düşük sıcaklıkta muhafaza edin. Seyreltik Numune Seyrelticide 1:100 oranında seyreltilmiş numuneler, seyreltme işlemi takip eden 24 saat içinde kullanılmalıdır.






UYARILAR VE ÖNLEMLER

Yalnızca *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.

Güvenlik Önlemleri

1. Başta kullanım ve muhafaza koşullarına ilişkin olanlar olmak üzere, bu kitapçıktaki talimatlara kesin olarak uyun.
2.  Kalibratörler ve Kontroller, HBsAg, HIV-1 RNA veya HIV-1 Ag, anti-HIV-1/HIV-2 ve anti-HCV veya HCV RNA için FDA onaylı testlerle test edilmiş ve non-reaktif/negatif olduğu bulunmuş insan plazması içerir. Bilinen hiçbir test enfeksiyon kaynağı maddelerin bulunmadığının garantisini kesin olarak veremeyeceğinden, Kalibratörler ve Kontroller potansiyel enfeksiyon kaynağı olarak görülmeli ve diğer tüm potansiyel olarak biyo-tehlikeli maddelerle aynı şekilde önlem alınarak kullanılmalıdır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) onaylı "Laboratuvar Çalışanlarının Mesleki Kaynaklı Enfeksiyonlardan Korunması" (M29-A3 –Üçüncü Basım)²² kılavuzunda, bu maddelerin İyi Laboratuvar Uygulamasıyla uyumlu şekilde nasıl kullanılması gerektiği açıklanmaktadır.
3. Ağızdan pipetlemeyin.
4. Kitler ve numunelerin kullanıldığı alanlarda sigara içmeyin, herhangi bir şey yiyip içmeyin ve kozmetik malzemesi kullanmayın.
5. Her türlü cilt şikayeti, kesik, sıyrık ve diğer cilt lezyonları uygun şekilde korunmalıdır.
6. Kalibratörler, Kontroller ve Numune Seyreltici Konsantresi, kurşun ve bakır borularla reaksiyona girerek son derece patlayıcı metal azitler oluşturabilen sodyum azit içermektedir. Bunları atarken, azit birikimini önlemek için çok miktarda suyla birlikte akıtın.
7. Bu kitin içerdiği tüm zararlı bileşenler için materyal güvenlik veri tabloları, talep halinde Axis-Shield Diagnostics'ten alınabilir.

Dikkat: Federal yasalar bu cihazın satışını bir doktor tarafından ya da doktorun siparişi üzerine satış ile sınırlar

 <p>Tehlike Konjugat</p>	<p>Tehlike H317 – Alerjik reaksiyona neden olabilir. Önleme P272 – Kirlenmiş iş kıyafetleri İşyerinde dışarı izin verilmemelidir. P280 – Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/öz koruması/yüz koruyucusu kullanın. P363 – Giymeden önce giysilerinizi yıkayınız.</p>	
 <p>Tehlike Substrat</p>	<p>Tehlike H302 – Yutulması halinde zararlıdır. H312 – Cilt ile temasında sağlığa zararlıdır. H315 – Deri tahrişine neden olur. H319 – Ciddi göz tahrişine neden olur. H332 – Solunması halinde zararlıdır. H335 – Solunum tahrişine neden olabilir. Önleme P260 – Toz/duman/gaz/sis teneffüs etmeyiniz/buharlar sprey. P280 – Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/öz koruması/yüz koruyucusu kullanın. Yanıt P301+310 – YUTULURSA: Derhal bir ZEHİR MERKEZİ veya doktora/hekime başvurun. P304+340 – SOLUNMASI HALİNDE: Kazazedeyi açık havaya çıkarın ve nefes alabilmesi için rahat bir pozisyonda tutun. P305+351+338 – GÖZE GELMESİ HALİNDE: Birkaç dakika iyice suyla durulayınız. Mevcut ve kolay ise kontak lensleri çıkarın. Durulama devam edin.</p>	
  <p>Uyari Numune Seyreltici</p>	<p>Tehlike H302 – Yutulması halinde zararlıdır. H318 – Ciddi göz hasarına neden olur. H412 – Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. EUH032 – Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. Önleme P264 – Kullandıktan sonra iyice ellerinizi yıkayın. P280 – Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruması/ yüz koruyucusu kullanın. Yanıt P301+310 – YUTULURSA: Derhal bir ZEHİR MERKEZİ veya doktora/hekime başvurun. P305+351+338 – GÖZE GELMESİ HALİNDE: Birkaç dakika iyice suyla durulayınız. Mevcut ve kolay ise kontak lensleri çıkarın. Durulama devam edin. P330 – durulama Ağız.</p>	
 <p>Uyari Stop Solüsyonu</p>	<p>Tehlike H314 – Ciddi derecede deri yanıkları ve göz hasarına neden olur. Önleme P260 – Toz/duman/gaz/sis teneffüs etmeyiniz/buharlar sprey. P273 – Çevreye salmaktan kaçınınız. P280 – Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruması/ yüz koruyucusu kullanın. Yanıt P301+330+331 – YUTULURSA: ağızınızı çalkalayın. KusturMAYınız. P303+361+353 – CİLDE (veya saça): Sökücü / Kirlenmiş olan giysilerinizi hemen çıkarınız. su / duş yaparak deriyi durulayın. P304+340 – SOLUNMASI HALİNDE: Kazazedeyi açık havaya çıkarın ve nefes alabilmesi için rahat bir pozisyonda tutun. P305+351+338 – GÖZE GELMESİ HALİNDE: Birkaç dakika iyice suyla durulayınız. Mevcut ve kolay ise kontak lensleri çıkarın. Durulama devam edin.</p>	

HAZIRLANMASI

Gerekli Olup Sağlanmayan Materyaller/Ekipman

1. 450 nm filtreli 96 kuyucuklu plaka/strip okuyucu.
2. 10 µL, 100 µL, 1 mL dağıtmak için hassas pipetler. 100 µL dağıtmak için otomatik pipet. Manuel yıkama amacıyla 300 µL dağıtmak için otomatik pipet, isteğe bağlı otomatik plaka yıkayıcı.
3. Cam/plastik ölçüm silindirleri: 1x100 mL, 1x500 mL.
4. 1 mL hacim konteynerleri.
5. Distile/deiyonize su.
6. Kağıt havlu.
7. 30 ve 60 dakikalık süreler için zamanlayıcı.

Testin Hazırlanması

Mikrotitre stripler dahil olmak üzere tüm kit bileşenlerini kullanmadan önce 30-60 dakika boyunca 18-25°C sıcaklığa gelene kadar ısınmasını sağlayın. Reaktifleri hafifçe ters çevirerek karıştırın.

Referans Kontrolünü seyreltmeyin.

Aşağıdaki reaktifleri seyreltin ve iyice karıştırın.

Reaktif	Hacim	Ekleyin
Yıkama Tampon Konsantresi	1 şişe	225 mL distile/deiyonize su
Numune Seyreltici Konsantre	1 şişe	100 mL distile/deiyonize su
Pozitif ve Negatif Kontroller/Numuneler	10 µL	1 mL seyreltik Numune Seyreltici

Geçerli test için gereken mikrotitre strip sayısını hesaplayın ve bunları mikrotitre strip tutucuya yerleştirin. Kalan stripleri kurutuculu açılıp kapanabilir folyo ambalaja geri koyarak ihtiyaç duyulana kadar 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin. Tüm striplerin mikrotitre strip tutucuya tam olarak oturduğundan emin olun. Kullanıcılar, isterse tespit edilmelerini kolaylaştırmak için striplerin her birini üst köşesinden numaralandırabilir. Mikrotitre strip tutucuyu sonra tekrar kullanmak üzere saklayın.

TEST PROTOKOLÜ

Kalitatif protokol: test Referans Kontrolü, Pozitif ve Negatif Kontroller ve numuneler.

Yarı Kantitatif protokol: test Kalibratörleri (1-6), Pozitif ve Negatif Kontroller ve numuneler.

1. Kuyucukları tespit etmek için referans hazırlayın.
2. İki kopya 100µL Referans Kontrol/Kalibratörü ve önceden seyreltilmiş (1:100) pozitif ve negatif kontrolleri uygun kaplara pipetleyin. Tekil ya da iki kopya halindeki 100 µL önceden seyreltilmiş (1:100) hasta numunesini uygun kaplara pipetleyin. Numunelerin miktar tayininin iki kopya halinde yapılması önerilmektedir, fakat bu, yerel laboratuvar kurallarına göre isteğe bağlıdır. Herhangi bir Kalibratör/Kontrol/numune seti için bu adım **10 dakikayı** geçmemelidir.
3. 18-25°C sıcaklıkta 60 ± 10 dakika inkübe edin.
4. Biyolojik maddelerin atılmasına uygun bir evyeye strip içeriğini boşaltın; numunelerin potansiyel enfeksiyon tehlikesini aklınızdan çıkarmayın. Ters çevrilen stripleri kağıt havlularla iyice kurulaştırın.
5. Kuyucukları en az 300 µL seyreltik Yıkama Tamponuyla **dört kez** yıkayın. **Her yıkama adımından sonra boşaltın ve kurulaştırın.**
6. Her bir kuyucuğa 100 µL Konjugat ekleyin.
7. 18-25°C sıcaklıkta 30 ± 5 dakika inkübe edin.
8. 4. ve 5. adımları tekrarlayın.
9. Her bir kuyucuğa 100 µL Substrat ekleyin.
10. 18-25°C sıcaklıkta 30 ± 5 dakika inkübe edin. **Boşaltmayın.**
11. Her bir kuyucuğa Substrat ekleme sırasıyla ve hızıyla 100 µL Stop Solüsyonu ekleyin. Karıştırmak için kuyucuklara hafifçe vurun ve hiçbir kabarcık görünmediğinden emin olun.
12. Stripleri 450 nm'de okuyun.
13. Testin tamamlanmasından sonraki 60 dakika içinde testi okuyun.

SONUÇLARIN HESAPLANMASI VE YORUMLANMASI

Sonuçları hesaplarırken ve yorumlarırken her bir testi ayrı olarak ele alın.

Kalitatif Protokol

Pozitif ve Negatif Kontrollerin ve her bir (ortalama)numunenin Referans Kontrolü Absorbans Değerine ortalama absorbans değeri (optik yoğunluk) oranını hesaplayın:

$$\text{Absorbans Oranı} = \frac{\text{Ortalama Kontrol Absorbans Değeri}}{\text{Ortalama Referans Kontrolü Absorbans Değeri}}$$

$$\text{Absorbans Oranı} = \frac{(\text{Ortalama}) \text{ Numune Absorbans Değeri}}{\text{Ortalama Referans Kontrolü Absorbans Değeri}}$$

Kullanıcılar, pozitif ve negatif numuneler arasında hasta popülasyonlarına özgü bir kesme değeri hesaplamalıdır. Axis-Shield klinik çalışmasında kullanılan hasta popülasyonlarından elde edilen sonuçlar, aşağıdaki kesme değerine işaret etmektedir:

<u>Absorbans Oranı</u>	<u>Sonuç Yorumu</u>
< 0,95	Negatif
≥ 0,95 ila ≤ 1,0	Sınır - testin tekrarlanması tavsiye edilir
> 1,0	Pozitif

Yarı Kantitatif Protokol

Her bir Kalibratörün ortalama absorbans değeriyle log₁₀ Kalibratör konsantrasyonunu (bkz. aşağıdaki tablo) uygun bir grafik kağıdına işaretleyin. Pozitif ve Negatif Kontrollerin ve (ortalama) numunelerin ortalama konsantrasyonları böylece kalibrasyon eğrisinden okunabilir; aşağıda yalnızca referans için tipik bir kalibrasyon eğrisi çizimi gösterilmektedir; sonuçların yorumlanması için kullanılmamalıdır. 4-parametrelili lojistik (4PL) ve Kübik Spline eğri uydurmalar yeterlidir. Diğer eğri uydurma modelleri önerilmez

Absorbansları Kalibratör 6'nın (300 U/mL) üzerinde olan numuneler, test aralığının dışındadır ve > 300 U/mL olarak bildirilmeli, seyreltilmeli ve bu tekrar seyreltme faktörü düzeltilerek yeniden test edilmelidir.

Yarı Kantitatif sonuçların yorumlanması için ve Axis-Shield referans* popülasyonunun verilerine dayanarak şu önerilir:

<u>(Ortalama) Numune</u>	<u>Sonucu Sonuç Yorumu</u>
≤ 5 U/mL	Negatif
> 5 U/mL	Pozitif

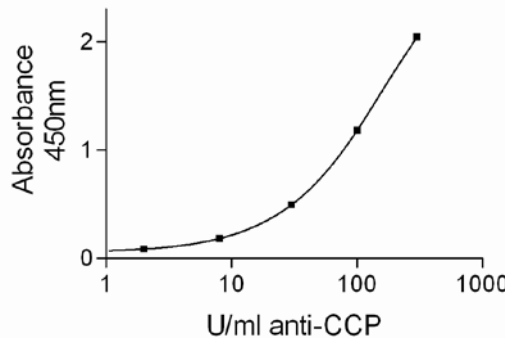
*Bu yalnızca kılavuz olarak önerilmektedir. Kullanıcıların popülasyona özgü olabilecek bir referans aralığı belirlemeleri önerilir.

Dikkat: Antikorları ölçen tüm testlerde olduğu gibi, bu test numunede bulunan antikorun konsantrasyonundan ziyade aktivitesini tespit eder. Aktivite, antikor aviditesi dahil olmak üzere çeşitli parametrelerden etkilenebilir.

Kalibratör Konsantrasyonları

Kalibratör Numarası	Konsantrasyon U/mL
1	0
2	2
3	8
4	30
5	100
6	300

Tipik Kalibrasyon Eğrisi



KALİTE KONTROLÜ

Plaka okuyucunun bakımı ve kalibrasyonunun üreticinin talimatlarına uygun şekilde yeterli düzeyde gerçekleştirilmesini ve doğru dalga boyunun uygulanmasını sağlayın.

Kullanıcılar, test talimatlarını, özellikle Uyarılar ve Önlemler bölümüyle Kullanım ve Prosedüre İlişkin Notları tamamen anladığından emin olmalıdır. Kullanıcılar, hasta test sonuçlarını bildirmeden önce, kesinlik ve raporlanabilir test sonuçları aralığı için üretici tarafından belirlenenlerle karşılaştırılabilecek şekilde performans spesifikasyonlarını sağlayabildiklerini kanıtlamalıdır. Test prosedürünün kalitesinin izlenmesi amacıyla, tüm testlerde önceden seyreltilmiş Pozitif ve Negatif Kontrollerin çift olarak gerçekleştirilmesi önerilir. Tüm kalitatif testlerde kullanıma hazır Referans Kontrolünü çift olarak gerçekleştirin.

Üretici tarafından açıklanan kesinlik spesifikasyonlarının yerine getirildiği kabul edilirse, herhangi bir Kontrolün aşağıdaki Kontrol oranı spesifikasyonlarını yerine getirememesi, testi geçersiz kılar ve hasta sonuçlarının bildirilmemesi gerekir. Operatör, prosedürü gözden geçirerek testi tekrarlayabilir veya distribütör/üretici ile bağlantı kurabilir. Testi tekrarladığınız takdirde, her bir Kontrol ve numune için yeni bir seyreltik hazırlayın. Laboratuvarlar, her test işlemine kendi hazırladıkları kontrolleri dahil edebilir. Bu tür kontrol materyalini -20°C veya daha düşük sıcaklıkta muhafaza edin ve sürekli dondurma ve çözme döngülerinden kaçınin. %0,1 (a/h) sodyum azit gibi koruyucu maddeler, numune sonuçlarını etkilemez.

Belirli hastalıklarda tespit edilen analit düzeyleri, spesifik popülasyonlar için üretici tarafından belirlenen düzeylerdir ve literatürü yansıtmayabilir. İnsidans düzeyleri, bunların spesifik hastalıklarla ilişkisi, referans aralıkları ve uygun kesme noktalarının tümü, kullanıcılar tarafından hizmet verilen spesifik popülasyonlar için hesaplanmalıdır.

Kontrol Oranı Spesifikasyonları

Protokol	Spesifikasyonlar
Kalitatif (oranlar)	$\frac{\text{Pozitif Kontrol Absorbansı}}{\text{Referans Kontrol Absorbansı}} \geq 1,1$
	$\frac{\text{Negatif Kontrol Absorbansı}}{\text{Referans Kontrol Absorbansı}} < 0,95$
Yarı Kantitatif	Beklenen kabul aralığı (U/mL) için Pozitif Kontrol şişe etiketine bakın
	Negatif Kontrol konsantrasyonu < 2 U/mL

BEKLENEN DEĞERLER

Yaş aralığı 18-72 olan yaklaşık olarak eşit sayıda erkek [n = 105] ve kadından [n = 95] oluşan görünüşte sağlıklı asemptomatik donörlerden alınan 200 serum numunesi, Axis-Shield Anti-CCP testle (FCCP200) test edilmiştir.

Cinsiyet veya yaşa atfedilebilecek hiçbir farklılığa rastlanmamıştır (≤ 40 yaş [n = 115] ve > 40 yaş [n = 85] yaş aralıkları karşılaştırılarak hesaplanmıştır).

Bu popülasyonun genel ortalama anti-CCP konsantrasyonu $0,63 \pm 0,419$ U/mL'dir (0,05-3,8 U/mL aralık).

Bu referans popülasyonun ve bir klinik popülasyonun verilerine dayanarak, önerilen test kesme değeri:

Referans Aralığı
 ≤ 5 U/mL = Negatif
 > 5 U/mL = Pozitif

Bu referans aralığı, yalnızca kılavuz olarak önerilmektedir ve her laboratuvar, coğrafi faktörlerle hasta, beslenme, çevre faktörlerine veya klinik uygulamaya bağlı olarak hizmet ettiği popülasyona özgü olabilecek bir referans aralığı belirlemelidir. Romatoid Artritin prevalansının kadınlarda erkeklere kıyasla iki kat fazla olduğunu lütfen unutmayın.

PERFORMANS VERİLERİ

Seyreltme Doğrusallığı

Axis-Shield Anti-CCP test, LOD ila 300 U/mL ölçüm aralığında doğrusal olacak şekilde tasarlanmıştır.

CLSI belgesi EP6-A²³ rehberliğinde gerçekleştirilen bir çalışmaya dayanarak, Axis-Shield Anti-CCP test, 1,04 U/mL ila 300 U/mL* arasında doğrusallık sergilemiştir.

* Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir

> 300 U/mL numuneler, test aralığına seyreltildiğinde ve doğru seyreltme faktörü kullanıldığında, beklenen sonucun ortalama $\leq \%100 \pm \%15$ 'ine* ulaşmaktadır.

* Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir

Klinik Hassasiyet ve Spesifiklik

Axis-Shield Anti-CCP testin (FCCP600) klinik hassasiyeti, 229 onaylı RA hastası için tespit edilmiştir; klinik spesifiklik, RA bulunmayan 285 numune (diğer romatik ve non-romatik bozukluklu hastalardan 135 ve görünürde sağlıklı asemptomatik bireylerden 150 numune) için tespit edilmiştir. 5,0 U/mL kesme değeri kullanılarak, %99 spesifiklikle hassasiyet %78 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıdaki tablolarda özetlenmektedir.*

Numune Kategorisi	Toplam n	Pozitif n	% Hassasiyet
RA	229	179	78

Numune Kategorisi	Toplam n	Pozitif n	% Spesifiklik
Toplam Non-RA Numuneleri	285	4	98,6
Non-RA Sağlıklı Asemptomatik	150	1	99,3
Non-RA Hastalık Numuneleri ⁺	135	3	97,8

⁺ Diğer romatik ve non-romatik bozukluklu hastalardan alınan 135 numune için klinik spesifiklik aşağıdaki tabloda sınıflandırılmıştır.*

Non-RA Hastalık Numuneleri	Toplam n	Pozitif n	Klinik spesifiklik
Toplam	135	3	%97,8
Enflamatuar Poliartrit	41	1	%97,6
EBV IgG Pozitif	18	1	%94,4
Hashimoto Tiroidi	17	0	%100
Sjögren Sendromu	16	1	%93,8
Sistemik Lupus Eritematozus	16	0	%100
Vaskülit	5	0	%100
Sklerodermi	5	0	%100
Osteoartrit	4	0	%100
Crohn Hastalığı	3	0	%100
Raynaud Fenomeni	3	0	%100
Ülseratif Kolit	2	0	%100
Psöriyatik Artrit	2	0	%100
Reaktif Artrit	1	0	%100
Ankilozan Spondilit ve Polimiyozit	2	0	%100

*Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir.

Yöntem Karşılaştırması

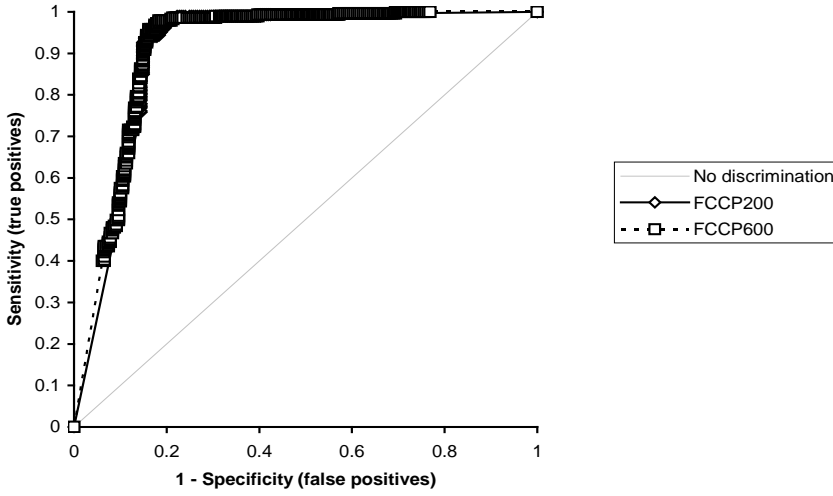
Axis-Shield Anti-CCP test (FCCP600), komparatör Axis-Shield Anti-CCP testle (FCCP200) karşılaştırıldığında RA ve non-RA numuneleri için \geq %99 konkordansa sahip olacak şekilde tasarlanmıştır. Klinik Hassasiyet ve Spesifiklik bölümünde açıklanan RA ve non-RA numuneleri, Axis-Shield Anti-CCP (FCCP600) testi Axis-Shield Anti-CCP test (FCCP200) ile karşılaştırmak için kullanılmıştır. Axis-Shield Anti-CCP test (FCCP200) için, üretici prospektüsünde belirtildiği gibi 5,0 U/mL kesme değeri kullanılmıştır. Axis-Shield Anti-CCP test (FCCP600) için 5,0 U/mL kesme değeri kullanılarak %99 konkordans hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıdaki tablolarda özetlenmektedir.*

Tüm Numuneler (514)		FCCP200	
		Pozitif	Negatif
FCCP600	Pozitif	179	4
	Negatif	1	330

Karşılaştırma Yöntemi	FCCP600 ile FCCP200
Numune sayısı	65
Regresyon çizgisinin eğimi	0,910
Y-Kesme Noktası	1,226
Korelasyon katsayısı	0,94

*Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir.

İki test için yukarıda elde edilen veriler kullanılarak Alıcı Operatör Eğrisi (ROC) analizi gerçekleştirilmiştir. Axis-Shield Anti-CCP test (FCCP600) için eğri altındaki alan (AUC) 0,910 (%95 güven aralığı: 0,881-0,940) ve komparatör Axis-Shield Anti-CCP test (FCCP200) için 0,903 (%95 güven aralığı: 0,871-0,934) idi; dolayısıyla klinik farklılaşmalarına ilişkin olarak iki test de karşılaştırılabilir. ROC analiz eğrisi aşağıda gösterilmektedir.*



*Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir.

Kesinlik

CLSI (daha önce NCCLS) Belgesi EP5-A2²⁴ rehberliğinde bir çalışma gerçekleştirildi. İki anti-CCP kontrolü, altı Kalite Kontrolü panel üyesi ve bir insan serumu, iki reaktif lotu kullanılarak çift olarak günde iki ayrı kez 20 gün boyunca test edildi (n=80). Bu çalışmadan elde edilen veriler, temsili veriler olarak aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (1 ondalık basamağa yuvarlanmıştır):

Numune	Kit Lot	n	Ortalama (U/mL)	İşlem İçinde		İşlem Arasında		Gün Arasında		Toplam	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Pozitif Kontrol	001	80	20,30	1,05	5,2	1,24	6,1	0,00	0,0	1,63	8,0
	003		20,62	0,43	2,1	1,20	5,8	0,00	0,0	1,27	6,2
KK 1	001	80	3,72	0,33	8,8	0,17	4,5	0,13	3,6	0,39	10,5
	003		3,92	0,23	5,8	0,35	8,9	0,04	1,1	0,42	10,7
KK 2	001	80	8,17	0,34	4,2	0,72	8,8	0,00	0,0	0,80	9,8
	003		8,47	0,30	3,6	0,70	8,3	0,25	2,9	0,80	9,5
KK 3	001	80	15,30	0,37	2,4	0,93	6,0	0,30	1,9	1,04	6,8
	003		15,98	0,36	2,2	0,92	5,8	0,00	0,0	0,99	6,2
KK 4	001	80	53,55	2,30	4,3	3,19	6,0	1,71	3,2	4,29	8,0
	003		55,49	2,36	4,2	3,35	6,0	0,00	0,0	4,09	7,4
KK 5	001	80	94,26	3,17	3,4	7,31	7,8	2,01	2,1	8,22	8,7
	003		97,15	2,61	2,7	5,56	5,7	4,79	4,9	7,79	8,0
KK 6	001	80	134,77	4,58	3,4	5,84	4,3	5,74	4,3	9,38	7,0
	003		142,41	5,69	4,0	9,02	6,3	0,00	0,0	10,67	7,5
Ref Kontrol	001	80	5,18	0,34	6,6	0,24	4,6	0,21	4,0	0,46	9,0
	003		5,09	0,26	5,1	0,21	4,1	0,21	4,2	0,39	7,7

Numune 1	001	80	4,83	0,16	3,3	0,38	7,9	0,24	5,0	0,48	9,9
	003		4,77	0,20	4,1	0,37	7,8	0,25	5,2	0,49	10,2

* Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir

Tespit Sınırı

Axis-Shield Anti-CCP testin tespit sınırı (LOD), CLSI (daha önce NCCLS) Belges EP17-A²⁵ uyarınca 1,04 U/mL* olarak hesaplanmıştır.

LOD tespitleri, bir negatif anti-CCP numunesi (60 tekrar) ve altı düşük düzeyli anti-CCP numunesi (her biri 15 tekrar) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

*Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir.

Yüksek Doz Kanca

Yüksek doz kanca, testin dinamik aralığında çok yüksek numunelerin okunabileceği bir fenomendir. Axis-Shield Anti-CCP testi için, yaklaşık 3000 U/mL anti-CCP antikoru içeren bir numune test edildiğinde hiçbir yüksek doz kanca etkisi görülmemiştir.*

*Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir.

Enterferans

Axis-Shield Anti-CCP testi, içindeki potansiyel olarak enterferansa neden olan aşağıdaki bileşiklerden anti-CCP konsantrasyonunda maksimum sapma gerçekleştirecek şekilde tasarlanmıştır:

- $\geq 10,0$ U/mL anti-CCP konsantrasyonları için \pm %15
- $\geq 4,0$ U/mL ila $< 10,0$ U/mL anti-CCP konsantrasyonları için \pm %10
- $< 4,0$ U/mL anti-CCP konsantrasyonları için $<0,75$ U/mL

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) belgesi EP7-A²⁶ rehberliğinde Axis-Shield Anti-CCP test için bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Test aralığında anti-CCP düzeyleri bulunan altı numuneye, aşağıdaki tabloda belirtilen potansiyel enterferans kaynağı bileşikler eklenmiştir. Bu çalışmalar sırasında numunelerdeki anti-CCP konsantrasyonunda görülen maksimum sapma, aşağıdaki aralıklarda olmuştur:

- $\geq 10,0$ U/mL anti-CCP konsantrasyonları için -%9,4 ila 3,3
- $\geq 4,0$ U/mL ila $< 10,0$ U/mL anti-CCP konsantrasyonları için -%7,3 ila %4,8
- $< 4,0$ U/mL anti-CCP konsantrasyonları için -0,6 U/mL ila 0,05 U/mL*

Potansiyel Enterferans Kaynağı Madde	Aşağıdaki konsantrasyona kadar hiçbir enterferans bulunmamıştır
Hemoglobin	4 mg/mL
Bilirubin	0,2 mg/mL
Trigliserid (İntralipit Solüsyon)	15 mg/mL
Romatoid Faktör	200 IU/mL
Toplam Protein (Gama Globulinler)	120 mg/mL

*Temsili veriler; münferit laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir.

KULLANIM SINIRLAMALARI

1. Her ne kadar CCP antikorlarının varlığı Romatoid Artrit ile ilişkilendirilse de, pozitif bir sonuç tek başına tanı niteliği taşımaz; veriler diğer klinik bulgular ve laboratuvar bulgularının ışığında değerlendirilmelidir.
2. Bazı bireylerde klinik hastalık kanıtı çok az bulunmakla veya hiç bulunmamakla birlikte yüksek anti-CCP antikor düzeyleri görülebilir. Buna karşın, aktif hastalığa sahip bazı hastalarda bu antikorlar tespit edilemeyen düzeylerde olabilir. Bu bilgilerin klinik anlamı şu anda belirsizdir.
3. Anti-CCP testin sonucu, klinik hastalığın varlığı veya yokluğuna ilişkin tanı kanıtı olmadığından, yalnızca anti-CCP pozitif sonucuna dayanılarak terapi başlatılmamalıdır.
4. Tedavinin başlatılması veya değişiklikler, anti-CCP otoantikor konsantrasyonundaki değişikliklere değil, klinik gözlemlere dayandırılmalıdır.
5. Romatoid Artritin ilerlemesi/gerilemesinin göstergesi olarak CCP otoantikor düzeylerinin izlenmesinin klinik etkinliği tanımlanmamıştır.
6. Juvenil Artritte anti-CCP'nin değeri tespit edilmemiştir.
7. Antijen/antikor etkileşimlerinin belirli özelliklerine bağlı olarak, antikor konsantrasyonu değil, antikor aktivitesi tespit edilmektedir. Hasta serumu heterojen antikor popülasyonları içerdiğinden, bazı numuneler, özellikle çok yüksek numune seyreltme düzeylerinde non-lineerlik sergileyebilir.

REFERANSLAR

1. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid Arthritis. *Cell* 1996;85:307-10.
2. Landewé RB. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):1-5
3. Lard LR, Visser H, Speyer I, et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001;111:446-51.
4. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-24.
5. van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med* 2002;60(10):383-8.
6. Nienhuis RL, Mandema E, Smids C. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964;23:302-05.
7. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, et al. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979;2:97-9.
8. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, et al. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50:611-8.
9. Sebbag M, Simon M, Vincent C, et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95:2672-9
10. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, et al. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *BioEssays* 2003;25:1106-18
11. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101(1):273-81
12. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):155-63.
13. Vossenaar ER, van Venrooij WJ. Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. *Clin Applied Immunol Rev* 2004;4:239-62.
14. Pruijn GJ, Vossenaar ER, Drijfhout JW, et al. Anti-CCP antibody detection facilitates early diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Current Rheumatology Reviews* 2005;1(1):1-7.
15. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(10):2741-49
16. Nielen MM, van Schaardenbur D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50 (2):380-386
17. van Gaalen, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(3):709-15
18. Meyer O, Labarre C, Dougados M, et al. Anticitrullinated protein / peptide antibody assays in early Rheumatoid Arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:120-26
19. Forslind K, Ahlmén M, Eberhardt K, et al. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1090-95
20. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, et al. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1085-89
21. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. An American College of Rheumatology/European League against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum* 2010; 62 (9):2569-81
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
23. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
24. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS document EP5-A2. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
25. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. NCCLS document EP17-A Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

Axis-Shield Diagnostics Limited






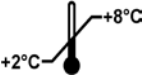

The Technology Park, Dundee DD2 1XA, BK.

Tel: +44 (0) 1382 422000, Faks: +44 (0) 1382 422088.

E-posta: shield@axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com



IVD	<i>In vitro</i> diagnostik medikal cihaz
REF	Katalog numarası
LOT	Lot
	96 test
	Dikkat
	Kullanım talimatlarına bakın
	Işıktan Koruyun
	Son kullanma tarihi
	2-8°C sıcaklıkta muhafaza edin
Rx Only	Sadece Reçeteli Olarak Kullanılabilir
	Üretici
CONTROL +	Pozitif Kontrol
CONTROL -	Negatif Kontrol
CONJ	Konjugat
SUBS	Substrat
SOLN STOP	Stop Solüsyonu
BUF WASH 10 X	Yıkama Tamponu
MTP 8 x 12	Microtitre (Ayrılabilir) Stripler
SAMPLE DIL 5 X	Numune Seyreltici
CAL 1	Kalibratör 1
CAL 2 - CAL 6	Kalibratör 2-6
CONTROL REF	Referans Kontrolü

Ver: 2016/08