



A x i s - S h i e l d

Anti-CCP

IVD



REF FCCP600

Nur für die professionelle Verwendung



Axis-Shield Diagnostics Limited

The Technology Park, Dundee DD2 1XA, Vereinigtes Königreich

Tel.: +44 1382 422000 / *Fax:* +44 1382 422088

E-Mail: shield@axis-shield.com

Internet: www.axis-shield.com

Bei dem Axis-Shield Anti-CCP-Test handelt es sich um einen semi-quantitativen/qualitativen enzymgekoppelten Immunadsorptionstest (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) für den Nachweis der für zyklische citrullinierte Peptide spezifischen IgG-Klasse von Autoantikörpern in Humanserum (insbesondere SST-Röhrchen) oder -plasma (EDTA, Lithium-Heparin oder Natriumcitrat). Der Nachweis von Anti-CCP-Antikörpern trägt zur Sicherung der Diagnose einer rheumatoiden Arthritis bei, darf jedoch nur im Konsens mit anderen klinischen Informationen interpretiert werden. Die Autoantikörper-Konzentration stellt nur einen Parameter eines multikriteriellen diagnostischen Prozesses dar, der gleichermaßen klinische wie labortechnische Beurteilungen umfasst. Nur für die in vitro-Diagnostik.

EINLEITUNG

Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine verbreitete systemische Autoimmunerkrankung, von der 0,5 % – 1,0 % der erwachsenen Bevölkerung betroffen sind. Charakterisiert ist die RA durch eine chronische Entzündung der Synovialis, die zu einer progressiven Gelenkzerstörung und in vielen Fällen zu Behinderung und Einschränkungen der Lebensqualität führen kann.¹ Ein frühzeitiges Eingreifen ist anerkanntermaßen der Schlüssel zur Verhinderung irreversibler Gelenkschäden, daher muss die Diagnose RA möglichst früh im Krankheitsverlauf gesichert werden.^{2,3} Die Diagnosestellung bei der RA beruht primär auf klinischen, radiologischen und immunologischen Merkmalen. Der am häufigste eingesetzte serologische Test ist die Bestimmung des Rheumafaktors (RF).⁴ Dieser weist zwar eine zufriedenstellende Sensitivität auf, ist jedoch nicht spezifisch für RA, da der Rheumafaktor oftmals auch bei Gesunden und an anderen rheumatischen oder entzündlichen Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder chronischen Infektionen Erkrankten nachweisbar ist.⁵

Schon vor mehreren Jahren setzte sich die Erkenntnis durch, dass der Antiperinukleäre Faktor (APF) sowie der Anti-Keratin-Antikörper (AKA) eine hohe Spezifität für RA aufweisen. In der Folge wurde festgestellt, dass diese Antikörper mit nativem Filaggrin reagieren, so dass sie heute als Anti-Filaggrin-Antikörper bezeichnet werden.^{6,7,8} Neueste Erkenntnisse belegen, dass sich alle diese Antikörper gegen Epitope richten, die Citrullin enthalten.⁹ Citrullin ist eine nicht-proteinogene Aminosäure, d. h. nicht am Aufbau von Proteinen im Rahmen der Proteinsynthese beteiligt, kann jedoch durch posttranskriptionale Modifizierung von Argininresten durch das Enzym Peptidyl-Arginin-Deiminase (PAD) entstehen.¹⁰ 1998 wurde von der Arbeitsgruppe um Schellekens festgestellt, dass mit linearen synthetischen citrullinierten Peptiden reaktive Autoantikörper in einem auf dem ELISA-Verfahren basierenden Assay hochgradig spezifisch für RA sind.¹¹ Nachfolgende Untersuchungen belegten, dass zyklische Varianten dieser Peptide, so genannte zyklische citrullinierte Peptide (Cyclic Citrullinated Peptides, CCP), ebenso spezifisch für RA sind, zugleich jedoch eine höhere Sensitivität als lineare Peptide aufweisen.¹² In dem Bemühen um eine weitere Verbesserung der Sensitivität des CCP-Tests wurde eine dedizierte Bibliothek citrullinierter Peptide mittels RA-Seren gescreent. Dabei wurde ein neuer Peptidsatz (CCP2) mit im Vergleich zum CCP1-Test herausragendem Leistungsvermögen entdeckt.¹³ Im Laufe der letzten Jahre wurde die diagnostische Leistungsfähigkeit des CCP2-Tests in einer Vielzahl von Veröffentlichungen bestätigt.¹⁴ Anti-CCP-Antikörper, auch als Antikörper gegen citrullinierte Peptide/Proteine (Anti Citrullinated Peptide/Protein Antibodies, ACPA) bezeichnet, konnten bereits in einem sehr frühen Stadium der Erkrankung nachgewiesen werden, oftmals bei völliger Abwesenheit klinischer Symptome. Viele Veröffentlichungen bezeugen zudem, dass eine erhöhte Konzentration von Anti-CCP-Antikörpern als Prädiktor für die Entwicklung einer erosiven Erkrankung angesehen werden kann.^{15,16,17,18,19,20} Diese Erkenntnisse belegen die bedeutende Rolle zyklischer citrullinierter Peptide für die Diagnose der RA im Frühstadium.







Die 2010 publizierten RA-Klassifizierungskriterien von ACR / EULAR (*ACR / EULAR Rheumatoid Arthritis Classification Criteria*) ersetzen die „alten“ ACR-Kriterien von 1987, die weithin als für die Frühdiagnostik der RA ungeeignet angesehen wurden. Die in Kooperation vom American College of Rheumatology (ACR) und der European League Against Rheumatism (EULAR) herausgegebenen revidierten Klassifizierungskriterien empfehlen ein auf der Vergabe von Punkten zwischen 0 und 10 basierendes Beurteilungssystem. Die neuen Klassifizierungskriterien sollten bei jedem Patienten zur Anwendung gelangen, der sich mit eindeutiger Synovitis (undifferenzierte entzündliche Arthritis) vorstellt. Die vier zusätzlich aufgenommenen Kriterien waren: Anzahl der beteiligten Gelenke, serologische Anomalien, Akutphase-Antwort und Dauer des Anhaltens der Symptome in den beteiligten Gelenken. Erstmals zählte die Bestimmung der ACPA (Antikörper gegen citrullinierte Peptide/Proteine wie beispielsweise Anti-CCP) zu den serologischen Kriterien, wobei für diese zudem gewisse Definitionen für die Unterscheidung zwischen niedrig-positiven und hoch-positiven Ergebnissen geschaffen wurden.²¹

Bei dem Axis-Shield Anti-CCP-Assay handelt es sich um einen auf dem Nachweis von Autoantikörpern gegen modifizierte Argininreste enthaltende synthetische zyklische Peptide (CCP2-Peptide) in Humanserum oder -plasma basierenden ELISA, der als zusätzliches Hilfsmittel für die diagnostische Abklärung von RA-Patienten zur Verfügung steht.

PRINZIP DES ASSAYS

Die Wells der Mikrotiterstreifen sind mit einem hochgereinigten, modifizierte Argininreste enthaltenden synthetischen zyklischen citrullinierten Peptid beschichtet. Während der ersten Inkubation binden spezifische Autoantikörper im verdünnten Serum oder Plasma an die antigenbeschichtete Oberfläche. Anschließend werden die Wells ausgewaschen, um ungebundene Komponenten zu entfernen. Während der zweiten Inkubation bindet das Konjugat – ein gegen humanes IgG gerichteter enzymmarkierter polyklonaler Antikörper – sämtliche oberflächengebundenen Autoantikörper. Nach einem weiteren Waschschrift werden die spezifischen Autoantikörper durch Inkubation mit dem Substrat markiert. Durch Zugabe der Stopplösung wird die Reaktion beendet. Anschließend wird die Menge des im gefärbten Endprodukt gebundenen Konjugats in Adsorptionseinheiten gemessen. Im qualitativen Protokoll wird die Menge des durch die Probe gebundenen Konjugats mit der durch eine Referenzkontrolle gebundenen Menge verglichen. Im semiquantitativen Protokoll kann die Konzentration der Anti-CCP-Autoantikörper durch Interpolation einer auf Kalibratoren basierenden Dosis-Wirkungs-Kurve geschätzt werden.

KOMPONENTEN DES KITS

CONJ	1 x 15,0 ml	Meerrettichperoxydase-markierte polyklonale Ziegen-Antikörper gegen humanes IgG, 0,1 % (Massenkonzentration) p-Hydroxyphenylessigsäure, 0,15 % (Massenkonzentration) Proclin und 1 % (Massenkonzentration) Protein stabilisator (bovin) in einem HEPES-Puffer. Gebrauchsfertig. ZUR BEACHTUNG: WARNUNG	
SUBS	1 x 15,0 ml	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin, Pufferlösung. Gebrauchsfertig. Lichtgeschützt lagern. ZUR BEACHTUNG: WARNUNG	 
SOLN STOP	1 x 15,0 ml	Schwefelsäure in wässriger Lösung (0,25 mol/l) Gebrauchsfertig. ZUR BEACHTUNG: GEFAHR	
BUF WASH 10 X	3 x 25,0 ml	Phosphatgepufferte Salzlösung, 1,3 % (Volumenkonzentration) Polysorbat 20 Vor Gebrauch verdünnen.	
MTP 8 x 12	8x12-Well-Mikrotiter-Streifen (abbrechbar)	Beschichtet mit synthetischem zyklischem citrulliniertem Peptid, in wiederverschließbarer Folienverpackung mit Trockenmittel.	
SAMPLE DIL 5 X	1 x 25,0 ml	Phosphatpuffer, Protein stabilisator (bovin), 0,5 % (Massenkonzentration) Natriumazid. Vor Gebrauch verdünnen. ZUR BEACHTUNG: GEFAHR	 
CAL 1	1 x 1,0 ml	Phosphatpuffer, Protein stabilisator (bovin), < 0,1 % (Massenkonzentration) Natriumazid. 0 U/ml. Gebrauchsfertig.	
CAL 2 - CAL 6	5 x 1,0 ml	Humanplasma, Phosphatpuffer, Protein stabilisator (bovin) < 0,1 % (Massenkonzentration) Natriumazid. 2, 8, 30, 100, 300 U/ml. Gebrauchsfertig.	
CONTROL REF	1 x 1,5 ml	Humanplasma, Puffer, < 0,1% (Massenkonzentration) Natriumazid.	
CONTROL +	1 x 0,3 ml	Humanplasma, < 0,1% (Massenkonzentration) Natriumazid. Vor Gebrauch wie Proben im Verhältnis 1:100 mit verdünntem Probenverdünner verdünnen.	
CONTROL -	1 x 0,3 ml		

LAGERUNG DER REAGENZIEN

Stabilität des geöffneten Kits

Ein Kit wurde geöffnet und über einen Zeitraum von drei Monaten dreimal eingesetzt, ohne dass sich nachteilige Auswirkungen auf das Leistungsvermögen des Kits zeigten.

Nach Verwendung müssen die Komponenten wieder bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Anmerkungen zu Handhabung und Verfahrensweisen

1. Kit-Komponenten bei 2 °C bis 8 °C lagern und vor Ablauf des auf den Etiketten angegebenen Haltbarkeitsdatums verwenden. Reagenzien nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwenden.
2. Reagenzien mit unterschiedlichen Chargennummern nicht mischen.
3. Kits nicht einfrieren.
4. Waschpufferkonzentrat, Probenverdünnerkonzentrat sowie Positiv- und Negativkontrollen müssen vor Gebrauch verdünnt werden. Alle anderen Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert.
5. Eine mikrobielle Kontamination des verdünnten Waschpuffers und des verdünnten Probenverdünners ist unter allen Umständen zu verhindern. Nach Durchführung des Tests wieder bei 2 °C bis 8 °C lagern.
6. Überschüssige (unbenutzte) Mikrotiterstreifen wieder in die Folienverpackung mit Trockenmittel geben. Dichtigkeit des Verschlusses kontrollieren und bis zur Verwendung weiter bei 2 °C bis 8 °C lagern.
7. Substrat lichtgeschützt lagern.
8. Kontamination der Reagenzien vermeiden. Bei jedem Pipettieren eines Reagenz oder einer Probe eine neue Einmalpipettenspitze verwenden.

Anzeichen für Zersetzung

Das Substrat muss farblos bis ausgesprochen blassblau sein. Trübungen oder Ausfällungen sind bei allen Komponenten als Anzeichen einer Zersetzung anzusehen, die entsprechende Komponente ist zu entsorgen.

Nach der Entnahme aus der Kühllagerung sichtbare Kristalle im Waschpuffer oder im Probenverdünner lösen sich während des Erwärmens der Lösung auf Raumtemperatur auf.


Gewinnung und Lagerung von Proben

Der Assay ist für Humanserum- (insbesondere SST-Röhrchen) und Humanplasmaproben (EDTA, Lithium-Heparin oder Natriumcitrat) vorgesehen. Hinsichtlich der Verwendbarkeit anderer Röhrchentypen für diesen Assay liegen keine Erkenntnisse vor. Keine stark hämolysierten oder getrübbten Proben verwenden. Aufgetaute Proben vor der Analyse gründlich durchmischen. Wiederholtes Einfrieren/Auftauen ist zu vermeiden. Proben nicht hitzeinaktivieren, da dies zu falsch positiven Ergebnissen führen kann.

Bei der Vorbereitung für die Analyse entsprechend den Anweisungen des Entnahmeröhrchen-Herstellers verfahren. Unverdünnte Proben können bei 2 °C bis 8 °C für bis zu vier Wochen, bei -20 °C oder darunter auch für einen längeren Zeitraum gelagert werden. Im Verhältnis 1:100 in verdünntem Probenverdünner verdünnte Proben müssen innerhalb von 24 Stunden nach dem Verdünnen verwendet werden.






WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur für die *in vitro*-Diagnostik.

1. Die Anweisungen in dieser Broschüre – insbesondere zu Handhabung und Lagerungsbedingungen – sind auf das Genaueste zu befolgen.
2.  Kalibratoren und Kontrollen enthalten Humanplasma, das mittels FDA-zugelassener Assays auf HBsAg, HIV-1 RNA oder HIV-1 Ag, anti-HIV-1/HIV-2 sowie anti-HCV oder HCV RNA getestet und als nichtreaktiv bzw. negativ eingestuft wurde. Da kein bekannter Test das Vorliegen von Infektionserregern mit letzter Sicherheit ausschließen kann, sind Kalibratoren und Kontrollen als potenziell infektiös anzusehen und mit derselben Vorsicht zu handhaben wie alle anderen potenziell biologisch gefährlichen Materialien. Die vom CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) genehmigten Richtlinien „Schutz von Laborkräften vor berufsbedingten Infektionen“ (M29-A3 – Dritte Ausgabe)²² beschreibt die Handhabung dieser Materialien in Übereinstimmung mit guter Laborpraxis.
3. Nicht mit dem Mund pipettieren.
4. In Bereichen, in denen Kits und Proben gehandelt werden, nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika auflegen.
5. Hautleiden, Schnitte, Abschürfungen und andere Hautläsionen adäquat schützen.
6. Kalibratoren, Kontrollen und Probenverdünnungskonzentrat enthalten Natriumazid, das mit Blei- und Kupferrohren unter Bildung hochexplosiver Metallazide reagieren kann. Bei der Entsorgung mit großen Mengen Wasser nachspülen, um die Bildung von Aziden zu vermeiden.

7. Materialsicherheitsdatenblätter* für alle in diesem Kit enthaltenen gefährlichen Komponenten sind auf Anfrage bei Axis-Shield Diagnostics erhältlich.

Vorsicht: Nach US-amerikanischem Bundesrecht darf diese Vorrichtung nur durch einen Arzt oder auf ärztlich Verordnung hin abgegeben werden.

 Warnung Konjugat	<u>WARNUNG</u> H317 – <u>PRÄVENTION</u> P272 - P280 - P363 -	Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutztragen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
 Warnung Substrat	<u>WARNUNG</u> H302 – H312 – H315 – H319 – H332 – H335 – <u>PRÄVENTION</u> P260 – P280 – <u>RESPONSE</u> P301+310 – P304+340 – P305+351+338 –	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Gesundheitsschädlich bei Einatmen. Kann die Atemwege reizen. Saub/ Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nichteitemen Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutztragen. BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen.. Weiter spülen.
  Gefahr Probenverdünnung	<u>WARNUNG</u> H302 – H318 – H412 – EUH032 – <u>PRÄVENTION</u> P264 – P280 – <u>RESPONSE</u> P301+310 – P305+351+338 – P330 –	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Verursacht schwere Augenschäden. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. Nach Gebrauch Hände gründlich waschen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutztragen. BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen.. Weiter spülen. Mund ausspülen.
 Warnung Stopplösung	<u>WARNUNG</u> H314 – <u>PRÄVENTION</u> P260 – P273 – P280 – <u>RESPONSE</u> P301+330+331 – P303+361+353 – P304+340 – P305+351+338 –	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Saub/ Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nichteitemen Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutztragen. BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen.. Weiter spülen.

VORBEREITUNG

Benötigte, aber nicht zum Lieferumfang gehörende Materialien/Geräte/Hilfsmittel

1. 96-Well-Platten/Streifenlesegerät mit 450-nm-Filter
2. Präzisionspipetten für die Abgabe von 10 µl, 100 µl, 1 ml / Automatische Pipette für die Abgabe von 100 µl / Automatische Pipette für die Abgabe von 300 µl für den manuellen Waschvorgang / Optional: Automatisches Plattenwaschgerät
3. Messzylinder (Glas/Kunststoff): 1 x 100 ml, 1 x 500 ml
4. 1-ml-Behälter
5. Destilliertes/deionisiertes Wasser
6. Papiertücher
7. Zeitgeber für 30- und 60-Minuten-Intervalle

Vorbereitungen für den Assay

Alle Komponenten des Kits einschließlich der Mikrotiterstreifen vor Gebrauch auf 18 °C bis 25 °C erwärmen lassen (30 bis 60 Minuten). Reagenzien durch behutsames Umkehren durchmischen.

Die Referenzkontrolle nicht verdünnen.

Die folgenden Reagenzien verdünnen und gründlich durchmischen.

Reagenz	Volumen	Zugabe
Waschpufferkonzentrat	1 Flasche	225 ml destilliertes/deionisiertes Wasser
Probenverdünnungskonzentrat	1 Flasche	100 ml destilliertes/deionisiertes Wasser
Positiv- und Negativkontrollen / Proben	10 µl	1 ml verdünnte Probenverdünnung

Die Anzahl der für den aktuellen Assay benötigten Mikrotiterstreifen berechnen und diese in den Mikrotiterstreifenträger einsetzen. Überschüssige Mikrotiterstreifen wieder in die Folienverpackung mit Trockenmittel geben und bis zur Verwendung weiter bei 2 °C bis 8 °C lagern. Sicherstellen, dass alle Streifen fest und sicher im Mikrotiterstreifenträger sitzen. Zur eindeutigen Identifizierung empfiehlt es sich, die Streifen am oberen Rand zu nummerieren. Den Mikrotiterstreifenträger für die weitere Verwendung beiseite legen.

ASSAY-PROTOKOLL

Qualitatives Protokoll: Assay-Referenzkontrolle, Positiv- und Negativkontrolle, Proben.

Semiquantitatives Protokoll: Assay-Kalibratoren (1-6), Positiv- und Negativkontrollen, Proben.

1. Wells für die Identifizierung referenzieren.
2. 100 µl Referenzkontrolle/Kalibratoren (Doppelbestimmung) und vorverdünnte (1:100) Positiv- und Negativkontrolle (Doppelbestimmung) in die entsprechenden Wells pipettieren. 100 µl vorbehandelte (1:100) Patientenproben (Einzel- oder Doppelbestimmung) in die entsprechenden Wells pipettieren. Es wird empfohlen, die Proben in Doppelbestimmung zu testen, jedoch ist dies optional (lokale Laborregeln beachten). Dieser Schritt darf für eine Kalibratoren/Kontrollen/Probenreihe nicht mehr als **10 Minuten** in Anspruch nehmen.
3. 60 ± 10 Minuten bei 18 °C bis 25 °C inkubieren.
4. Den Streifeninhalt durch schnelles Umdrehen über einem für die Entsorgung biologischer Materialien vorgesehenen Spülbecken dekantieren. Dabei die von den Proben potenziell ausgehende Infektionsgefahr berücksichtigen. Die umgekehrten Streifen gründlich mit Papiertüchern abtupfen.
5. Die Wells **vier Mal** mit mindestens 300 µl verdünntem Waschpuffer waschen. **Nach jedem Waschschrift dekantieren und abtupfen.**
6. In jedes Well 100 µl Konjugat geben.
7. 30 ± 5 Minuten bei 18 °C bis 25 °C inkubieren.
8. Schritte 4 und 5 wiederholen.
9. In jedes Well 100 µl Substrat geben.
10. 30 ± 5 Minuten bei 18 °C bis 25 °C inkubieren. **Nicht dekantieren.**
11. In derselben Reihenfolge und derselben Geschwindigkeit wie bei der Zugabe des Substrats 100 µl Stopplösung in jedes Well geben. Wells zum Durchmischen behutsam beklopfen. Sicherstellen, dass keine sichtbaren Bläschen vorliegen.
12. Streifen bei 450 nm auslesen.
13. Assay innerhalb von 60 Minuten nach Abschluss des Tests auslesen.

BERECHNUNG UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Berechnung und Interpretation der Ergebnisse muss für jeden Assay separat durchgeführt werden.

Qualitatives Protokoll

Für jede Positivkontrolle, Negativkontrolle und Probe (Mittelwert) den Quotienten aus dem mittleren Extinktionswert (optische Dichte) und dem mittleren Extinktionswert der Referenzkontrolle berechnen:

$$\text{Extinktionsquotient} = \frac{\text{Mittlerer Extinktionswert der der Kontrolle}}{\text{Mittlerer Extinktionswert der Referenzkontrolle}}$$
$$\text{Extinktionsquotient} = \frac{\text{Mittlerer Extinktionswert der Probe}}{\text{Mittlerer Extinktionswert der Referenzkontrolle}}$$

Der Anwender muss einen für seine Patientenpopulationen spezifischen Cut-off-Wert für die Trennung von positiven und negativen Proben ermitteln. Die mit den Patientenpopulationen aus der von Axis-Shield durchgeführten klinischen Studie erzielten Ergebnisse legen den folgenden Cut-off-Wert nahe:

<u>Extinktionsquotient</u>	<u>Interpretation des Ergebnisses</u>
< 0,95	Negativ
≥ 0,95 bis ≤ 1,0	Grenzwertig – Testwiederholung empfohlen
> 1,0	Positiv

Semiquantitatives Protokoll

Der mittlere Extinktionswert der Kalibratoren wird auf geeignetem Logarithmenpapier gegen \log_{10} der Konzentration des jeweiligen Kalibrators aufgetragen. Aus der so erhaltenen Kalibrierungskurve kann dann die mittlere Konzentration der Positiv- und Negativkontrolle und der Proben (Mittelwert) abgelesen werden. Das nachstehende Diagramm einer typischen Kalibrierungskurve dient nur zur Illustrierung des Vorgehens und darf nicht für die Interpretation von Ergebnissen verwendet werden. Eine Kurvenanpassung mittels 4-Parameter-Logistik (4-PL) oder kubischen Splines ist ausreichend, von der Verwendung anderer Kurvenanpassungsmodelle wird abgeraten.

Proben mit einem über dem von Kalibrator 6 (300 U/ml) liegenden Extinktionswert liegen außerhalb des Messbereichs des Assays und müssen als > 300 U/ml angegeben, verdünnt und erneut getestet werden, wobei bei der anschließenden Berechnung dieser zusätzliche Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen ist.

Hinsichtlich der Interpretation semiquantitativer Ergebnisse empfiehlt sich auf Grundlage der Axis-Shield Referenzpopulationsdaten* das folgende Schema:

<u>Ergebnis der Probe (Mittelwert)</u>	<u>Interpretation der Probe</u>
≤ 5 U/ml	Negativ
> 5 U/ml	Positiv

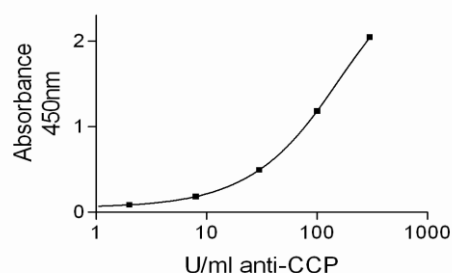
*Dieses Schema ist nur als Vorschlag zu betrachten. Dem Anwender wird die Festlegung eines eigenen, für die jeweilige Population spezifischen Referenzbereichs angeraten.

Bitte beachten Sie: Wie jedes andere Assay zur Bestimmung von Antikörpern auch bestimmt dieses Assay die Aktivität der in der Probe vorliegenden Antikörper und nicht deren Konzentration. Die Aktivität kann durch die verschiedensten Faktoren beeinflusst werden, beispielsweise durch die Avidität des Antikörpers.

Kalibratorkonzentrationen

Kalibratormer	Konzentration [U/ml]
1	0
2	2
3	8
4	30
5	100
6	300

Typische Kalibrierungskurve



QUALITÄTSKONTROLLE

Es ist sicherzustellen, dass das Plattenlesegerät entsprechend der Herstelleranweisungen adäquat gewartet und kalibriert wird und dass die richtige Wellenlänge angewendet wird.

Der Anwender muss sicherstellen, dass er mit den Anweisungen für den Assay – insbesondere den Abschnitten „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ und „Anmerkungen zu Handhabung und Vorgehensweise“ – vollumfänglich vertraut ist. Vor der Anwendung des Assays auf Patientenproben muss der Anwender nachweisen, dass er die vom Hersteller festgelegten Leistungsspezifikationen hinsichtlich Präzision und Messbereich erbringen kann. Zur Überwachung der Qualität des Testverfahrens wird empfohlen, die vorverdünnten Positiv- und Negativkontrollen in allen Tests als Doppelbestimmung mitlaufen zu lassen. Bei allen qualitativen Tests muss die gebrauchsfertige Referenzkontrolle als Doppelbestimmung mitlaufen.

Sofern die vom Hersteller vorgegebenen Präzisionsspezifikationen erfüllt sind, ist der Assay als ungültig anzusehen, wenn das Ergebnis einer der Kontrollen außerhalb des nachstehend angegebenen Spezifikationsbereichs liegen sollte. In diesem Fall dürfen die mit diesem Assay ermittelten Patientenergebnisse nicht herausgegeben werden. Nach Überprüfung der Verfahrensschritte kann der Assay wiederholt werden, alternativ kann der Distributor/Hersteller zu Rate gezogen werden. Für die Wiederholung des Assays ist eine frische Verdünnung aller Kontrollen und Proben herzustellen. Kontrollen dieser Art bei oder unter -20 °C lagern und wiederholtes Einfrieren/Auftauen vermeiden. Konservierungsmittel wie Natriumazid (0,1 % Massenkonzentration) haben keine Auswirkungen auf die Ergebnisse der Proben.

Bei den bei bestimmten Erkrankungen nachgewiesenen Konzentrationen von Analyten handelt es sich um Angaben, die vom Hersteller für bestimmte Populationen vorgegeben wurden. Diese stimmen nicht notwendigerweise mit den Angaben in der einschlägigen Literatur überein. Indidenzgrade, ihr Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen, Referenzbereiche und angemessene Cut-off-Werte müssen vom Anwender für die spezifische betreute Population berechnet werden.

Spezifikationen der Kontrollen

Protokoll	Spezifikationen
Qualitativ (Quotienten)	$\frac{\text{Extinktionswert der Positivkontrolle}}{\text{Extinktionswert der Referenzkontrolle}} \geq 1,1$
	$\frac{\text{Extinktionswert der Negativkontrolle}}{\text{Extinktionswert der Referenzkontrolle}} < 0,95$
	Siehe Etikettierung der Positivkontrolle für den zulässigen erwarteten Bereich [U/ml]
	Konzentration der Negativkontrolle < 2 U/ml

ERWARTETE WERTE

200 Serumproben von asymptomatischen und augenscheinlich gesunden Spendern im Alter zwischen 18 und 72 Jahren mit einer in etwa ausgeglichenen Geschlechterverteilung (105 Männer / 95 Frauen) wurden mit einem Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP200) getestet.

Dabei wurden keinerlei geschlechts- oder altersspezifische (Stratifizierung nach ≤ 40 Jahren [n = 115] und > 40 Jahren [n=85]) Abweichungen festgestellt.

Die über die gesamte Population gemittelte Anti-CCP-Konzentration lag bei $0,630 \pm 0,419$ U/ml (Bereich: 0,05 – 3,80 U/ml).

Auf Grundlage der Daten dieser Referenzpopulation und denen einer klinischen Population ergibt sich der folgende vorgeschlagene Cut-off-Wert:

<p>Referenzbereich ≤ 5 U/ml = negativ > 5 U/ml = positiv</p>
--

Dieser Referenzbereich soll nur als Anhalt dienen. Jedes Labor muss einen auf seine Patientenpopulation – samt ggf. zu beachtender Einflussfaktoren (geographische Lage, Patiententyp, Ernährung, Umweltfaktoren) – und klinischen Verfahren abgestimmten Referenzbereich ermitteln. Bitte beachten Sie, dass die Prävalenz der rheumatoiden Arthritis bei Frauen doppelt so hoch liegt wie bei Männern.

LEISTUNGSDATEN

Linearität der Verdünnung

Der Axis-Shield Anti-CCP-Assay soll über den gesamten Messbereich von der Nachweisgrenze (LOD) bis 300 U/ml linear sein.

Im Rahmen einer Evaluierung gemäß dem CLSI-Dokument EP6-A²³ wurde die Linearität des Axis-Shield Anti-CCP-Assays zwischen 1,04 U/ml und 300 U/ml nachgewiesen.*

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Proben mit einer Konzentration von mehr als 300 U/ml zeigten nach Verdünnung in den Messbereich des Assays und Anwendung des korrekten Verdünnungsfaktors eine mittlere Wiederfindung von $\leq 100 \% \pm 15 \%$ * des erwarteten Ergebnisses.

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Klinische Sensitivität und Spezifität

Für die Bestimmung der klinischen Sensitivität des Axis-Shield Anti-CCP-Assays (FCCP600) wurden 229 Proben von Patienten mit abgesicherter RA herangezogen, die Bestimmung der klinischen Spezifität erfolgte unter Verwendung von 285 Proben von RA-freien Spendern (135 Patienten mit anderen rheumatischen und nicht rheumatischen Erkrankungen sowie 150 asymptomatische und augenscheinlich gesunde Personen). Bei Zugrundelegung eines Cut-off-Werts von 5,0 U/ml ergaben sich die Sensitivität zu 78 % und die Spezifität zu 99 %. Die nachstehenden Tabellen fassen diese Ergebnisse zusammen.*

Probenkategorie	Gesamt n	Positiv n	Sensitivität [%]
RA gesamt	229	179	78

Probenkategorie	Gesamt n	Positiv n	Spezifität [%]
Nicht-RA-Proben gesamt	285	4	98,6
Nicht-RA-Proben von asymptomatischen Gesunden	150	1	99,3
Proben von Patienten mit anderen Erkrankungen als RA ⁺	135	3	97,8

Klinische Spezifität für 135 Proben von Patienten mit anderen rheumatischen und nicht rheumatischen Erkrankungen (Aufschlüsselung nach den einzelnen Erkrankungen siehe nachstehende Tabelle).

Proben von Patienten mit anderen Erkrankungen als RA	Gesamt n	Positiv n	Klinische Spezifität
Gesamt	135	3	97,8 %
Entzündliche Polyarthrit	41	1	97,6 %
EBV IgG-positiv	18	1	94,4 %
Hashimoto-Thyreoiditis	17	0	100 %
Sjögren-Syndrom	16	1	93,8 %
Lupus erythematodes	16	0	100 %
Vaskulitis	5	0	100 %
Sklerodermie	5	0	100 %
Arthrose	4	0	100 %
Morbus Crohn	3	0	100 %
Morbus Raynaud	3	0	100 %
Colitis ulcerosa	2	0	100 %
Psoriasisarthritis	2	0	100 %
Reaktive Arthritis	1	0	100 %
Spondylitis ankylosans und Polymyositis	2	0	100 %

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Methodenvergleich

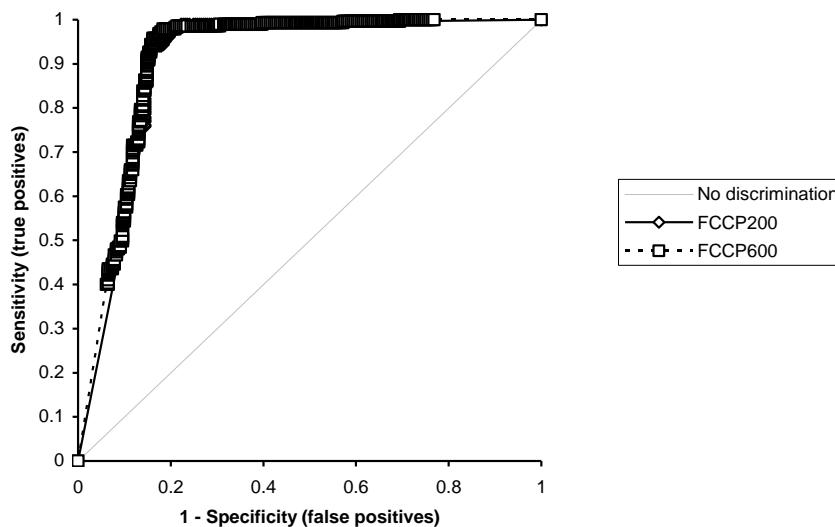
Der Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP600) soll für RA- und Nicht-RA-Proben gleichermaßen eine Korrelation von $\geq 99\%$ mit dem zum Vergleich herangezogenen Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP200) aufweisen. Für den Vergleich des Axis-Shield Anti-CCP-Assays (FCCP600) mit dem Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP200) wurden die im Abschnitt „Sensitivität und Spezifität“ beschriebenen RA- und Nicht-RA-Proben herangezogen. Für den Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP200) gelangte der in der Packungsbeilage des Herstellers angegebene Cut-off-Wert 5,0 U/ml zur Anwendung. Bei Verwendung eines Cut-off-Werts von 5,0 U/ml für den Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP600) ergab sich rechnerisch eine Korrelation von 99 %. Die nachstehenden Tabellen fassen diese Ergebnisse zusammen.*

Alle Proben (514)		FCCP200	
		Positiv	Negativ
FCCP600	Positiv	179	4
	Negativ	1	330

Methodenvergleich	FCCP600 vs. FCCP200
Anzahl der Proben	65
Steigung der Regressionsgeraden	0,910
y-Achsen-Abschnitt	1,226
Korrelationskoeffizient	0,94

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Für die für die beiden Assays ermittelten Daten wurde eine ROC-Analyse (Receiver Operator Characteristic) durchgeführt. Dabei ergab sich für den Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP600) eine „Fläche unter der Kurve“ von 0,910 (95%-Konfidenzintervall: 0,881 – 0,940) bzw. von 0,903 (95%-Konfidenzintervall: 0,871 – 0,934) für den zum Vergleich herangezogene Axis-Shield Anti-CCP-Assay (FCCP200). Somit lässt sich konstatieren, dass die beiden Assays hinsichtlich der klinischen Differenzierung als gleichwertig anzusehen sind. Die ROC-Kurve ist nachstehend abgebildet.*



* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Präzision

Zur Bestimmung der Präzision wurde eine Evaluierung gemäß dem CLSI-Dokument (früher: NCCLS) EP5-A2 durchgeführt.²⁴ Zwei Anti-CCP-Kontrollen, sechs Qualitätskontrollen und eine Humanserumprobe wurden über 20 Tage zweimal täglich zu unterschiedlichen Uhrzeiten mit zwei Chargen Reagenzien in Doppelbestimmung getestet (n = 80). Die nachstehende Tabelle fasst die Ergebnisse dieser Evaluierung summarisch zusammen (*gerundet auf eine Nachkommastelle*).

Probe	Kit-Charge	n	MW [U/ml]	Innerhalb einer Serie		Zwischen Serien		Zwischen Tagen		Gesamt	
				SD	VarK [%]	SD	VarK [%]	SD	VarK [%]	SD	VarK [%]
Positivkontrolle	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
QK 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
QK 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
QK 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
QK 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
QK 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
QK 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
Referenzkontrolle	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
Probe 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

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) des Axis-Shield Anti-CCP-Assays wurde in Übereinstimmung mit dem CLSI-Dokument (früher NCCLS) EP17-A²⁵ mit 1,04 U/ml bestimmt.*

Die Bestimmung der Nachweisgrenze erfolgte unter Verwendung einer Anti-CCP-negativen Probe (60 Durchläufe) und sechs Anti-CCP-Proben mit geringer Konzentration (jeweils 15 Durchläufe).

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Hook-Effekt

Hook-Effekt ist die Bezeichnung für ein Phänomen, bei dem Proben mit sehr hoher Konzentration fälschlicherweise ein innerhalb des dynamischen Messbereichs des Assays liegendes Ergebnis liefern. Beim Axis-Shield Anti-CCP-Assay konnte bei der Messung einer Probe mit einer Anti-CCP-Antikörperkonzentration von etwa 3000 U/ml kein Hook-Effekt beobachtet werden.*

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

Störeinflüsse

Die maximale Abweichung der mit dem Axis-Shield Anti-CCP-Assay bestimmten Anti-CCP-Antikörper-Konzentration soll bei gleichzeitigem Vorliegen der unten aufgeführten potenziell störenden Substanzen in der Probe betragen:

- $\pm 15\%$ bei Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen $\geq 10,0$ U/ml
- $\pm 10\%$ bei Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen $\geq 4,0$ U/ml und $< 10,0$ U/ml
- $< 0,75$ U/ml bei Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen $< 4,0$ U/ml

Zur Bestimmung der Auswirkungen von Störeinflüssen wurde eine Evaluierung gemäß dem CLSI-Dokument (früher: NCCLS) EP7-A2²⁶ durchgeführt. Sechs Proben mit innerhalb des Messbereichs liegenden Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen wurden die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten potenziell störenden Substanzen zugegeben. Bei diesen Messungen zeigten sich Abweichungen von der tatsächlichen Anti-CCP-Antikörper-Konzentration von maximal:

- $-9,4\%$ bis $3,3\%$ bei Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen $\geq 10,0$ U/ml
- $-7,3\%$ bis $4,8\%$ bei Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen $\geq 4,0$ U/ml und $< 10,0$ U/ml
- $-0,6$ U/ml bis $0,05$ U/ml bei Anti-CCP-Antikörper-Konzentrationen $< 4,0$ U/ml*

Potenziell störende Substanz	Konzentration, bis zu der keine Störeinflüsse nachweisbar waren
Hämoglobin	4 mg/ml
Bilirubin	0,2 mg/ml
Triglyceride (Intralipidlösung)	15 mg/ml
Rheumafaktor	200 IU/ml
Gesamtprotein (Antikörper)	120 mg/ml

* Repräsentative Daten; Ergebnisse in individuellen Labors können von diesen Daten abweichen.

ANWENDUNGSGRENZEN

1. Wiewohl das Vorliegen von Anti-CCP-Antikörpern mit rheumatoider Arthritis assoziiert ist, besitzt ein positives Ergebnis für sich allein keine diagnostische Aussagekraft, sondern muss stets in Synopsis mit anderen klinischen und Laborbefunden betrachtet werden.
2. Bei manchen Personen kann eine hohe Konzentration von Anti-CCP-Antikörpern bei gleichzeitig nur geringen oder zu Gänze fehlenden klinischen Erkrankungszeichen vorliegen. Auf der anderen Seite können bei manchen aktiv Erkrankten nicht nachweisbare Konzentrationen dieser Antikörper vorliegen. Die klinische Bedeutung dieses Umstands ist zum jetzigen Zeitpunkt unklar.
3. Das Ergebnis eines Anti-CCP-Assays darf nicht als definitiver diagnostischer Nachweis oder Ausschluss des Vorliegens einer klinischen Erkrankung angesehen werden. Die Aufnahme einer Therapie auf alleiniger Grundlage eines positiven Anti-CCP-Tests ist nicht zulässig.
4. Aufnahme oder Umstellung einer Behandlung dürfen nicht auf Veränderungen der gemessenen Anti-CCP-Antikörper-Konzentration beruhen, sondern nur auf klinischen Beobachtungen.
5. Hinsichtlich des klinischen Nutzens der Überwachung der Anti-CCP-Antikörper-Konzentration als Indikator für Progression/Remission der rheumatoiden Arthritis liegen keine Erkenntnisse vor.
6. Hinsichtlich des Nutzens der Bestimmung der Anti-CCP-Antikörper-Konzentration bei juveniler Arthritis liegen keine Erkenntnisse vor.
7. Aufgrund der spezifischen Eigenschaften der Interaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern wird nicht die Konzentration des Antikörpers bestimmt, sondern seine Aktivität. Das Serum mancher Patienten kann heterogene Antikörperpopulationen aufweisen, manche Proben können – insbesondere bei sehr starker Verdünnung – eine Nichtlinearität zeigen.

QUELLENANGABEN

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

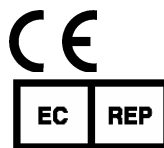
The Technology Park, Dundee DD2 1XA, UK.

Tel: +44 (0) 1382 422000,

Fax: +44 (0) 1382 422088.

E-mail: shield@axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)

Schiffgraben 41,

30175 Hannover,

Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630

Fax: + (49) 511 6262 8633

IVD

Medizinprodukt für die *in vitro*-Diagnostik

REF

Bestellnummer

LOT

Charge



96 Tests



Vorsicht



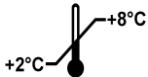
Gebrauchsanweisung beachten



Vor Licht schützen



Verwendbar bis



Bei 2 °C bis 8 °C lagern

Rx Only

Verschreibungspflichtig



Hergestellt durch

CONTROL +

Positivkontrolle

CONTROL -

Negativkontrolle

CONJ

Konjugat

SUBS

Substrat

SOLN STOP

Stopplösung

BUF WASH 10 X

Waschpuffer

MTP 8 x 12

Mikrotiterstreifen (abbrechbar)

SAMPLE DIL 5 X

Probenverdünnung

CAL 1

Kalibrator 1

CAL 2 - CAL 6

Kalibrator 2 – 6

CONTROL REF

Referenzkontrolle