

CCPoint[®]



CCPoint®

A visually read, qualitative rapid lateral flow test
for the detection of Rheumatoid Arthritis specific autoantibodies
(anti-CCP)
(Cat. No. CCPoint 20)
For use by healthcare professionals

Doc. no. E-23-0183-03
September, 2011



INTENDED USE

The Euro-Diagnostica CCPoint® test is a visually read, qualitative rapid lateral flow test for the detection of IgG antibodies to Cyclic Citrullinated Peptides (CCP) in human capillary whole blood, plasma or serum. The results of the test are to be used as an aid to the diagnosis of Rheumatoid Arthritis (RA), in conjunction with other laboratory and clinical findings. For use by healthcare professionals. For in vitro diagnostic use.

SUMMARY AND EXPLANATION

Rheumatoid Arthritis (RA) is one of the most common systemic autoimmune diseases. The aetiology of the disease, which affects up to 1-2% of the world population, is unknown. The diagnosis of RA depends primarily on clinical manifestation of the disease. A serological test routinely used is the determination of rheumatoid factors (RF) in serum. RF are antibodies directed to the Fc part of antibodies of the human IgG class. However, these antibodies are also present in relatively high percentages in other autoimmune diseases, infections and in up to 15% of healthy individuals.

Antibodies of a more specific nature have also been found in sera of RA patients (see (1) for an overview). A number of cyclic synthetic peptides have been described specifically recognized by autoantibodies in sera from RA patients (2). These peptides have been used in an EIA for the detection of RA-specific autoantibodies (2). Clinical evaluation studies showed that the EIA was positive in a significant number of well-defined RA patient sera with a high specificity against disease controls (2-7). A diagnostic and prognostic value for the measurement of antibodies reactive to Cyclic Citrullinated Peptides (anti-CCP) was found in relation to joint involvement and radiological damage in early RA (6, 8-13). Anti-CCP antibodies can be detected years before the development of clinical symptoms (13). The CCPoint® test offered by Euro-Diagnostica is a fast lateral flow immunoassay for the detection of anti-CCP antibodies in human capillary whole blood. The test is based on highly purified synthetic peptides containing citrulline residues and is a valuable addition to the diagnosis of RA. The sensitivity and specificity of the assay equals the Immunoscan RA anti-CCP ELISA (Euro-Diagnostica).

PRINCIPLE OF THE CCPoint® TEST

The CCPoint® test is a colloidal gold based lateral flow immunoassay. Reactive cyclic citrullinated peptides are immobilised as a discrete line on a porous membrane located in the test zone.

The detection reagent, consisting of colloidal gold particles conjugated to anti-human IgG, is deposited within the device onto the conjugate pad.

In the assay procedure, a sample of blood is added to the sample port. A blood cell separation membrane transfers the sample fluid onto the porous membrane. After a short incubation, running buffer is added to the buffer port. This buffer mobilizes the colloidal gold particles from the conjugate pad. The gold particles and the sample move by capillary force across the membrane.

If the sample contains anti-CCP antibodies they will bind to the peptide-antigens and a red line will appear in the test zone (marked T). If the sample does not contain any anti-CCP antibodies no line will appear. With any sample a red control line should appear in the control zone (marked C). The control ensures that the coated colloidal gold is still active.

MATERIALS AND REAGENTS PROVIDED

Contents of CCPoint® test kit:

- 20 Foil pouches containing the CCPoint® test device
- 22 Disposable pipettes (20 µL)
- 2 Droplet bottles, each containing 3 mL of running buffer.
- 1 CCPoint® Instructions for Use
- 1 Quick Reference Instruction

MATERIALS/EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Finger lancet
- Pre-injection swab
- Adhesive bandages
- Biohazard containers for disposal of contaminated material
- Disposable gloves
- Timer
- When applicable; precision pipettes to dispense 10 µL serum or plasma

HANDLING AND STORAGE

- Store the kit at 2-25° C, in a dry place.
- If stored in a refrigerator, allow the test device and buffer bottle to reach room temperature (18-25° C) before opening and testing.
- Keep the test device in its foil pouch until use.
- Do not use expired reagents.
- Do not mix different lot numbers.
- Do not freeze the kit.
- Kit contents are stable until the expiration date printed on the outer box.

PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use only.
- Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol.
- Do not use components past the expiration date and do not mix components from different lots.
- Each test device can be used only once.
- Do not use a CCPoint® test if its foil pouch is damaged.
- When performing the test, wear disposable gloves throughout the test procedure.
- Observe universal precautions and other appropriate laboratory and safety practices when collecting, handling and disposing of patient blood. All blood samples and used materials (including disposable gloves) should be considered as potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. Proper handling and disposal methods should be established according to local, state and federal regulations.

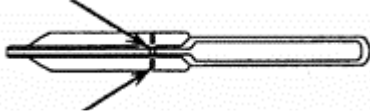
SAMPLE COLLECTION

The assay is recommended for human capillary whole blood obtained by finger prick. EDTA plasma, heparin plasma, citrate plasma or serum samples can also be used.

Do not use frozen whole blood samples, grossly haemolysed or turbid plasma/serum samples.

When capillary blood is tested, the sample port should be loaded by using the disposable pipette (20 μ L) provided with the kit. An air vent in this tube is strategically positioned on the sidewall of the pipette to provide automatic air venting and sample volume control.

Air vent regulates volume of sample flow



Fill line indicates total sample collected

Capillary blood should be tested immediately after the sample is taken.

When plasma or serum is tested, the sample port should be loaded by pipetting 10 μ L of plasma or serum.

ASSAY PROCEDURE

1. Preparations

Collect the materials required: test device in foil pouch, buffer, timer, gloves, pre-injection swab, and adhesive bandage.

For finger prick: blood (safety) lancet and disposable pipette

For serum or plasma samples follow standard laboratory procedures.

2. Test device

When the CCPoint[®] test has been stored in a refrigerator, allow the test to reach room temperature (18-25° C) before use.

DO NOT open the foil pouch until you are ready to perform the test!

Open the foil pouch and place the test device horizontally on a clean and level surface.

DO NOT open the flip-up section of the device before running the test!

3. Preparing the sample

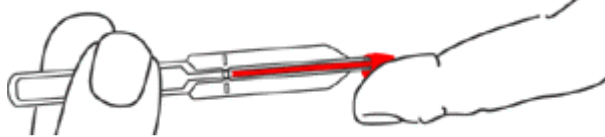
Capillary whole blood by finger prick:

Clean the finger tip with a pre-injection swab.

Use a blood (safety) lancet for performing a finger prick. To do so, follow the instructions for use delivered with the particular lancet.

After performing the finger prick, gently massage the finger in the direction of the finger tip in order to produce a droplet of blood on the puncture site.

Hold the disposable pipette horizontally and touch the tip of the pipette to the blood sample. Capillary action will automatically draw the sample to the fill line and stop.



Caution: Filling is automatic; never squeeze the pipette while sampling!

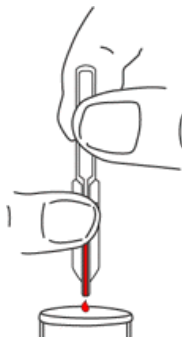
To avoid cross-contamination, use a new disposable pipette for each sample.

4. Adding the sample

The capillary blood sample (20 μL) or serum/plasma (10 μL) should be applied onto the blood separation membrane of the sample port.

To expel the capillary blood sample, align the tip of the disposable pipette with the sample port and squeeze the bulb. If the sample won't expel, slide a finger over the vent hole and squeeze the bulb.

Do not allow the disposable pipette to come in contact with the membrane.



After application of the sample, **wait 30 seconds.**

Lift the flip-up section and immediately add 5 drops of running buffer into the buffer port.

To avoid contamination, do not allow the tip of the running buffer vial to touch the device.

DO NOT CLOSE THE LID WHILE RUNNING THE TEST!


Keeping the lid open, allow the test to run for 10 minutes.


5. Interpretation of the test results


Read the results after 10 minutes under good lighting conditions.


To ensure assay validity, a procedural control line is incorporated in the device and is labelled 'C'. If the control line does not appear in this region by the assay completion, the test result is invalid and the sample should be retested with a new test device.

When the sample is positive for anti-CCP antibodies, a second line (the test line, labelled by 'T') will be visible.

 POSITIVE: 2 lines appear; one at the control line (C) and one at the test line (T)

 NEGATIVE: 1 line appears at the control line (C)

 INVALID: 1 line appears at the test line (T) only

 INVALID: No lines appear

Positive (two lines)

The appearance of both the test line (T) and the control line (C) in the result window, regardless of relative or absolute intensity should be interpreted as positive. The test should be interpreted as positive even if the test line is lighter in colour than the control line, incomplete over the width of the test strip, or uneven in colour. A positive result indicates the presence of anti-CCP antibodies in the blood sample.

Negative (one line)

The appearance of only the control line (C) in the result window indicates that the test is negative. A negative result should be interpreted as presumptive negative for the presence of anti-CCP antibodies in the blood sample.

Invalid

A test with a non-reactive control line (C), regardless of any other reactivity, is considered invalid.

The blood sample should be retested in another test device.

PROCEDURAL LIMITATIONS

Persons performing this test should do so only after carefully reading and understanding this package insert. Strict adherence to the protocol is necessary in order to obtain reliable test results.

The CCPoint® test is designed to detect anti-CCP antibodies in undiluted human capillary blood, plasma or serum. Diluted solutions of these specimens and/or the use of other body fluids may not yield correct results.

A negative test result does not preclude the possibility that the patient is in a phase of developing RA.

A positive result must be used in conjunction with clinical evaluation and other diagnostic procedures. The values obtained from this assay are intended to be an aid to diagnosis only. Each physician must interpret the results in conjunction with the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.

Elevated anti-CCP antibodies may be seen in individuals with no evidence of clinical disease. Also, some individuals with RA may have undetectable antibodies.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Table 1. Percent agreement of the CCPoint assay compared to alternative anti-CCP ELISA. A total of 1052 frozen retrospective sera were assayed, 596 of which were from RA patients and 456 samples were apparently healthy blood donors. The following table summarises the results.

	Alternative ELISA			
		Positive	Negative	Total
CCPoint assay	Positive	439	3	442
	Negative	1	609	610
	Total	440	612	1052

Positive Percent Agreement: 439/440 = 99.8% 95% CI = 98.7 - 100%
 Negative Percent Agreement: 609/612 = 99.5% 95% CI = 98.6 - 99.9%
 Overall Percent Agreement: 1048/1052 = 99.6% 95% CI = 99.0 - 99.9%

Table 2. Clinical sensitivity and specificity. A total of 1815 frozen retrospective sera with clinical characterisation were assayed. The following table summarizes the results.

	n	negative	positive
Healthy controls (blood donors)	456	452	4
RA	596	158	438
Infectious diseases	108	105	3
Inflammatory diseases (nonRA)	576	572	4
Routine samples (nonRA)	79	77	2
TOTAL	1815	1364	451

(Data on file)

Clinical sensitivity

RA	438/596	= 73.5%	95% CI = 69.9 - 77.0%
----	---------	---------	-----------------------

Clinical specificity

Healthy controls (blood donors)	452/456	= 99.1%	95% CI = 97.8 - 99.8%
Infectious diseases	105/108	= 97.2%	95% CI = 92.1 - 99.4%
Inflammatory diseases (nonRA)	572/576	= 99.3%	95% CI = 98.2 - 99.8%
Routine samples (nonRA)	77/79	= 97.4%	95% CI = 91.2 - 99.7%
Combined non-RA groups	1206/1219	= 98.9%	95% CI = 98.2 - 99.4%

The 95% confidence interval (CI) was calculated using the exact method.

Accuracy

Inter-assay performance of the CCPoint assay was evaluated using negative, low positive and high positive samples for antibodies against anti-CCP. Six different samples tested eight times each, by three different persons. All results obtained were 100% in agreement with the expected results.

Batch-to-batch performance of the CCPoint assay was evaluated using negative, low positive and high positive samples for antibodies against anti-CCP. Six different samples tested eight times each, with three different batches. All results obtained were 100% in agreement with the expected results.

Interference study

Three low positive samples were spiked to the following concentrations in serum samples; Bilirubin F at 18.8 mg/dL, Bilirubin C at 20 mg/dL, Haemoglobin at 453 mg/dL, Chyle at 23.6 U/dL and Rheumatoid Factor at 55 IU/mL. The data indicates that the assayed concentrations do not affect the accuracy of the test.

To assess potential cross-reactivity of CCP IgG antigen with other autoantibodies, a total of 498 samples of different aetiology were assayed. Samples from patients diagnosed with Crohn's disease, Colitis ulcerosa, SLE, Sjögren's syndrome, Osteoarthritis, Scleroderma, Multiple sclerosis, MCTD, Inflammatory bowel disease, Polymyositis/Dermatomyositis, nonRA autoimmune patients and samples reacting with MPO-ANCA, PR3-ANCA and ds-DNA. Data indicates that the assayed autoantibodies show no significant cross-reactivity.

CCPoint®

Test qualitatif, rapide, sur membrane, à lecture visuelle, destiné à la détection d'anticorps spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde (anti-CCP)
(Réf. CCPoint 20)

Utilisation réservée aux professionnels de la santé

UTILISATION

Le test Euro-Diagnostica CCPoint® est un test qualitatif, rapide, sur membrane, à lecture visuelle, destiné à la détection des anticorps IgG dirigés contre les peptides cycliques citrullinés (CCP) dans le sérum, le plasma ou le sang total capillaire humain. Les résultats du test, utilisés conjointement avec d'autres données biologiques et cliniques, représentent une aide au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (PR). Utilisation réservée aux professionnels de la santé. Pour le diagnostic in vitro uniquement.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est l'une des maladies auto-immunes systémiques les plus répandues dans le monde. Néanmoins, l'étiologie de cette maladie, qui touche 1 à 2% de la population mondiale, demeure inconnue. Le diagnostic de la PR repose essentiellement sur les manifestations cliniques de la maladie. Un test sérologique de routine est actuellement utilisé pour rechercher les facteurs rhumatoïdes (FR) dans le sérum. Les facteurs rhumatoïdes sont des anticorps dirigés contre le fragment Fc des anticorps de la classe des IgG humaines. Toutefois, ces anticorps sont présents, dans un pourcentage élevé, chez les individus souffrant de maladies auto-immunes, de maladies infectieuses et même chez environ 15% de la population normale.

Des anticorps d'une nature plus spécifique ont aussi été trouvés dans le sérum des patients souffrant de PR (voir (1) pour avoir une description générale). Plusieurs peptides synthétiques cycliques ont été décrits comme étant reconnus spécifiquement par des auto-anticorps de sérums provenant des patients souffrant de PR (2). Ces peptides ont été utilisés dans un dosage immunoenzymatique (EIA) servant à la détection des auto-anticorps spécifiques de la PR (2). Des évaluations cliniques ont montré que ce dosage immunoenzymatique (EIA) donnait des résultats positifs chez un nombre significatif de patients atteints de PR bien définie, avec une spécificité élevée par rapport à des contrôles pour d'autres maladies (2-7). Une valeur diagnostique et pronostique a été établie entre, d'une part, la mesure des anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) et, d'autre part, l'état des articulations et l'altération radiologique des patients au stade précoce de PR (6, 8-13). Les anticorps anti-CCP peuvent être détectés des années avant l'apparition des signes cliniques de la maladie (13). Le test CCPoint® proposé par Euro-Diagnostica est un dosage immunoenzymatique rapide sur membrane destiné à détecter les anticorps anti-CCP dans le sang total capillaire humain. Il se base sur l'utilisation de peptides synthétiques hautement purifiés contenant des résidus de citrulline. Il constitue une aide significative au diagnostic de la PR. La sensibilité et la spécificité du dosage sont les mêmes que celles du test ELISA Immunoscan RA anti-CCP (Euro-Diagnostica).

PRINCIPE DU TEST CCPoint®

Le test CCPoint® est un dosage immunoenzymatique sur membrane, à base d'or colloïdal. Les peptides cycliques citrullinés réactifs sont immobilisés suivant une ligne fine sur une membrane poreuse située dans la zone d'analyse. Le réactif de détection, composé de particules d'or colloïdal conjuguées à des anti-IgG humaines, est déposé dans le dispositif sur le bloc de conjugué. Conformément à la procédure du test, un échantillon de sang est introduit dans l'orifice pour l'échantillon. Une membrane de séparation des globules sanguins transfère le fluide de l'échantillon sur la membrane poreuse. Après une incubation courte, le tampon de migration est ajouté dans l'orifice du tampon. Ce tampon mobilise les particules d'or colloïdal du bloc de conjugué. Les particules d'or et l'échantillon migrent par force capillaire au travers de la membrane.

Si l'échantillon contient des anticorps anti-CCP, ils se lient aux peptides-antigènes et une ligne rouge apparaît dans la zone d'analyse (lettre T). Si l'échantillon ne contient pas d'anticorps anti-CCP, aucune ligne n'apparaît. Avec n'importe quel échantillon, une ligne de contrôle rouge doit s'afficher dans la zone de contrôle (lettre C). Le contrôle permet de vérifier que le revêtement d'or colloïdal est encore actif.

MATÉRIELS ET RÉACTIFS FOURNIS

Contenu de la trousse d'analyse CCPoint®:

- 20 sachets en aluminium contenant le dispositif du test CCPoint®
- 22 pipettes jetables (20 µL)
- 2 flacons goutte-à-goutte, contenant chacun 3 mL de tampon de migration
- 1 notice d'utilisation de CCPoint®
- 1 aide-mémoire rapide

MATERIEL/EQUIPEMENT NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Pique-doigt
- Gaze pré-injection
- Pansements adhésifs
- Récipients pour déchets biologiques pour jeter le matériel contaminé
- Gants jetables
- Chronomètre
- Lorsque cela est nécessaire, pipettes de précision pour pipeter 10 µL de sérum ou de plasma

MANIPULATION ET CONSERVATION

- Conserver la trousse entre 2° C et 25° C, dans un endroit sec.
- Si le dispositif du test et le flacon de tampon sont conservés dans un réfrigérateur, les laisser s'équilibrer à température ambiante (18-25° C) avant de les ouvrir et de réaliser le test.
- Laisser le dispositif du test dans son sachet en aluminium jusqu'à ce qu'il soit utilisé.
- Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont périmés.
- Ne pas mélanger des produits ayant des numéros de lot différents.
- Ne pas congeler la trousse.
- Les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage externe.

PRÉCAUTIONS

- Pour le diagnostic in vitro uniquement.
- Respecter le protocole pour obtenir des résultats optimaux.
- Ne pas utiliser les composants de la trousse après la date de péremption et ne pas mélanger les composants de lots différents.
- Chaque dispositif du test ne peut être utilisé qu'une seule fois.
- Ne pas utiliser le test CCPoint® si son sachet en aluminium est endommagé.
- Lors de la réalisation du test, porter de gants jetables tout au long de la procédure du test.
- Observer les précautions universelles ainsi que les pratiques de sécurité et de laboratoire appropriées lors du prélèvement, de la manipulation et de l'élimination du sang du patient.

Tous les échantillons de sang et les matériels utilisés (y compris les gants jetables) doivent être considérés comme potentiellement dangereux et doivent être manipulés de la même façon qu'un agent infectieux. Des méthodes correctes de manipulation et d'élimination doivent être établies conformément à la réglementation locale, nationale et fédérale.

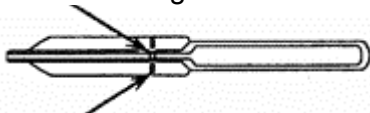
PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

Le test est recommandé pour le sang total capillaire humain prélevé avec un pique-doigt. Il est aussi possible d'utiliser des échantillons de plasma EDTA, de plasma hépariné, de plasma citraté ou de sérum.

Ne pas utiliser des échantillons de sang total congelés, ni des échantillons de plasma/sérum très hémolysés ou troubles.

Quand du sang capillaire est analysé, l'orifice de l'échantillon doit être chargé en utilisant la pipette jetable (20 µL) fournie dans la trousse. Un évent d'air est stratégiquement positionné sur le côté de la pipette pour fournir une évacuation automatique de l'air et pour contrôler le volume de l'échantillon.

L'évent d'air régule le volume de l'échantillon



La ligne de remplissage indique que l'échantillon est complètement prélevé

Le sang capillaire doit être analysé immédiatement après le prélèvement de l'échantillon. Quand du plasma ou du sérum est analysé, l'orifice de l'échantillon doit être chargé en pipétant 10 µL de plasma ou de sérum.

PROTOCOLE DE TEST

1. Préparation

Rassembler les matériels nécessaires : dispositif du test dans le sachet en aluminium, tampon, chronomètre, gants, gaze pré-injection et pansement adhésif.

Pour le pique-doigt : pique-doigt (de sécurité) et pipette jetable.

Pour les échantillons de sérum ou de plasma, suivre les procédures usuelles de laboratoire.

2. Dispositif du test

Si le dispositif CCPoint® a été conservé dans un réfrigérateur, laisser sa température s'équilibrer à température ambiante (18-25° C) avant de l'utiliser.

NE PAS ouvrir le sachet en aluminium tant que vous n'êtes pas prêt à réaliser le test!

Ouvrir le sachet en aluminium, puis placer le dispositif du test sur une surface propre et horizontale.

NE PAS ouvrir le couvercle relevable du dispositif avant de réaliser le test !

3. Préparation de l'échantillon

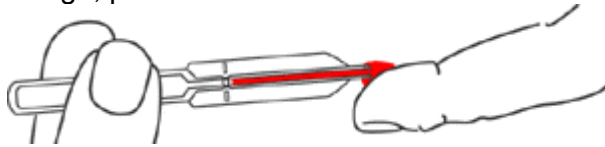
Sang total capillaire prélevé avec le pique-doigt :

Nettoyer le bout du doigt avec la gaze pré-injection.

Utiliser un pique-doigt (de sécurité) pour piquer le doigt. Pour cela, suivre la notice d'utilisation accompagnant le pique-doigt utilisé.

Une fois que le doigt est piqué, masser délicatement le doigt vers son extrémité afin de créer une goutte au niveau du site de ponction.

Tenir horizontalement la pipette jetable et toucher la goutte de sang avec l'embout de la pipette. L'échantillon est aspiré automatiquement par capillarité jusqu'à la ligne de remplissage, puis s'arrête.



Attention : Le remplissage est automatique ; ne jamais appuyer sur la pipette pendant le prélèvement de l'échantillon !

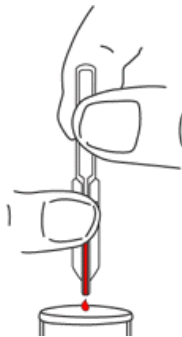
Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pipette jetable pour chaque échantillon.

4. Pipetage de l'échantillon

L'échantillon de sang capillaire (20 μ L) ou de sérum/plasma (10 μ L) doit être déposé sur la membrane de séparation des globules sanguins de l'orifice de l'échantillon.

Pour expulser l'échantillon de sang capillaire, aligner l'embout de la pipette jetable avec l'orifice de l'échantillon, puis appuyer sur la poire. Si l'échantillon ne veut pas sortir, placer un doigt sur l'évent d'air, puis appuyer sur la poire.

Ne pas laisser la pipette jetable entrer en contact avec la membrane.



Après l'application de l'échantillon, **attendre 30 secondes**.

Soulever le couvercle rabattable et ajouter immédiatement 5 gouttes de tampon de migration dans l'orifice du tampon.

Pour éviter toute contamination, ne pas laisser l'embout du flacon de tampon de migration toucher le dispositif.

NE PAS FERMER LE COUVERCLE TANT QUE LE TEST EST EN COURS DE RÉALISATION !

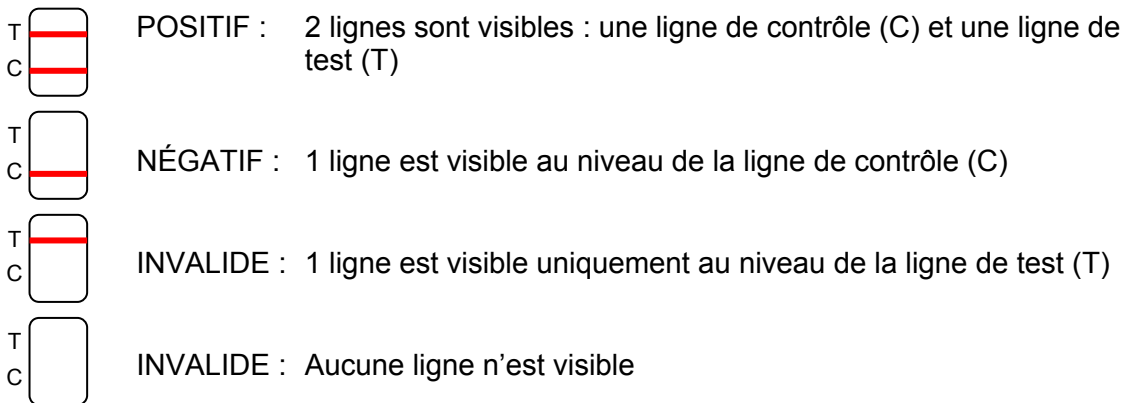
Tout en laissant le couvercle ouvert, laisser le test se réaliser pendant 10 minutes.

5. Interprétation des résultats du test

Lire les résultats après 10 minutes dans de bonnes conditions d'illumination.

Pour assurer la validité du test, une ligne de contrôle de la procédure est incorporée au dispositif et elle est repérée par la lettre C. Si la ligne de contrôle n'apparaît pas dans cette zone une fois le test terminé, les résultats du test ne sont pas valides et l'échantillon doit être réanalysé avec un autre dispositif de test.

Quand l'échantillon est positif (présence d'anticorps anti-CCP), une deuxième ligne (la ligne du test, repérée par la lettre T) devient visible.



Positif (deux lignes)

La présence de la ligne de test (T) et de la ligne de contrôle (C) dans la fenêtre de résultat, quelle que soit leur intensité relative ou absolue, doit être interprétée comme un résultat positif. Le test doit être interprété comme positif même si la ligne de test est d'une couleur plus claire que la ligne de contrôle, qu'elle est incomplète sur la largeur de la fenêtre ou que sa couleur est irrégulière. Un résultat positif indique la présence d'anticorps anti-CCP dans l'échantillon de sang.

Négatif (une ligne)

L'apparition de la ligne de contrôle (C) uniquement dans la fenêtre de résultat indique que le test est négatif. Un résultat négatif doit être interprété comme une présomption d'absence d'anticorps anti-CCP dans l'échantillon de sang.

Invalide

Si un test ne présente pas de ligne de contrôle (C), quelle que soit la réactivité de l'autre ligne, il est considéré comme invalide.

L'échantillon de sang doit être réanalysé dans un autre dispositif de test.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Les personnes réalisant ce test ne doivent le faire qu'après avoir lu et assimilé la présente notice. Il est nécessaire de respecter exactement le protocole afin d'obtenir des résultats fiables pour le test.

Le test CCPoint® est conçu pour détecter les anticorps anti-CCP dans le sérum, le plasma ou le sang capillaire humain non dilué. Des solutions diluées de ces échantillons et/ou l'utilisation d'autres fluides corporels risquent de ne pas donner des résultats corrects. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité que le patient soit au stade de développement de la PR.

Tout résultat positif doit être utilisé conjointement avec une évaluation clinique et d'autres procédures de diagnostic. Les valeurs obtenues avec ce test ne sont destinées à n'être qu'une aide au diagnostic. Il appartient à chaque médecin d'interpréter les résultats en fonction des antécédents du patient, de son examen physique et d'autres procédures de diagnostic.

Une concentration élevée en anticorps anti-CCP a été trouvée chez des individus ne présentant aucun signe clinique de maladie. En outre, certains patients atteints de PR peuvent avoir une concentration en anticorps non décelable.

PERFORMANCES

Tableau 1. Pourcentage de coïncidence entre le test CCPoint et une méthode alternative ELISA anti-CCP. Un total de 1052 échantillons de sérum congelés ont été analysés, dont 596 provenait de patients souffrant de PR et 456 échantillons de donneurs apparemment sains. Le tableau suivant résume les résultats.

	Méthode alternative ELISA			
		Positif	Négatif	Total
Test CCPoint	Positif	439	3	442
	Négatif	1	609	610
	Total	440	612	1052

Pourcentage de coïncidence (échantillons positifs) : $439/440 = 99,8\%$ IC à 95% = 98,7 – 100%

Pourcentage de coïncidence (échantillons négatifs) : $609/612 = 99,5\%$ IC à 95% = 98,6 – 99,9%

Pourcentage de coïncidence globale : $1048/1052 = 99,6\%$ IC à 95% = 99,0 – 99,9%

Tableau 2. Spécificité et sensibilité clinique. Au total, 1815 échantillons de sérum congelé (ayant une caractérisation clinique) ont été analysés. Le tableau suivant résume les résultats.

	n	Négatif	Positif
Contrôles sains (donneurs de sang)	456	452	4
PR	596	158	438
Maladies infectieuses	108	105	3
Maladies inflammatoires (hors PR)	576	572	4
Échantillons de routine (hors PR)	79	77	2
TOTAL	1815	1364	451

(Données disponibles)

Sensibilité clinique

PR 438/596 = 73,5% IC à 95% = 69,9 – 77,0%

Spécificité clinique

Contrôles sains (donneurs de sang)	452/456 = 99,1%	IC à 95% = 97,8 – 99,8%
Maladies infectieuses	105/108 = 97,2%	IC à 95% = 92,1 – 99,4%
Maladies inflammatoires (hors PR)	572/576 = 99,3%	IC à 95% = 98,2 – 99,8%
Échantillons de routine (hors PR)	77/79 = 97,4%	IC à 95% = 91,2 – 99,7%
Groupes hors PR combinés	1206/1219 = 98,9%	IC à 95% = 98,2 – 99,4%

L'intervalle de confiance (IC) à 95% a été calculé en utilisant la méthode exacte.

Précision

Les performances **intra-série** du test CCPoint ont été évaluées en utilisant des échantillons négatifs, faiblement positifs et très positifs pour la présence d'anticorps anti-CCP. Six échantillons différents ont été analysés huit fois chacun, par trois opérateurs différents. Tous les résultats obtenus ont présenté une coïncidence de 100% avec les résultats attendus.

Les performances **inter-lot** du test CCPoint ont été évaluées en utilisant des échantillons négatifs, faiblement positifs et très positifs pour la présence d'anticorps anti-CCP. Six échantillons différents ont été analysés huit fois chacun, avec trois lots différents. Tous les résultats obtenus ont présenté une coïncidence de 100% avec les résultats attendus.

Étude d'interférences

Trois échantillons faiblement positifs ont été enrichis pour obtenir les concentrations suivantes dans les échantillons de sérum ; bilirubine F à 18,8 mg/dl, bilirubine C à 20 mg/dl, hémoglobine à 453 mg/dl, chyle à 23,6 U/dl et facteur rhumatoïde à 55 UI/mL. Les données indiquent les concentrations analysées n'affectent pas la précision du test.

Pour évaluer une potentielle réaction croisée de l'antigène des IgG anti-CCP avec d'autres auto-anticorps, un total de 498 échantillons correspondant à différentes étiologies ont été analysés : échantillons provenant des patients chez qui on a diagnostiqué la maladie de Crohn, une colite ulcéreuse, un lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Sjögren, une arthrose, une sclérodermie, une sclérose en plaques, une connectivite mixte, une maladie inflammatoire intestinale, une polymyosite / dermatomyosite, échantillons de patients souffrant d'une maladie auto-immune autre que la PR et échantillons réactifs aux MPO-ANCA, aux PR3-ANCA et à l'ADN double brin. Les données indiquent que les auto-anticorps testés ne présentent pas de réactivité croisée significative.

CCPoint[®]

Una prueba de flujo lateral rápida, leída visualmente, cualitativa
para la detección de autoanticuerpos específicos de la artritis
reumatoide
(anti-PCC)
(N.º Cat. CCPoint 20).
Para uso por profesionales sanitarios

USO PREVISTO

La prueba CCPoint® de Euro-Diagnostica es una prueba de flujo lateral rápida, cualitativa, leída visualmente, para la detección de anticuerpos IgG frente a los péptidos citrulinados cíclicos (PCC) en sangre entera capilar, plasma o suero humanos. Los resultados del ensayo se usan como ayuda en el diagnóstico de la artritis reumatoide (AR), conjuntamente con otros hallazgos de laboratorio y clínicos. Para uso por profesionales sanitarios. Para uso diagnóstico in vitro.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La artritis reumatoide (AR), es una de las enfermedades autoinmunes sistémicas más frecuentes. La causa de la enfermedad, que afecta a hasta un 1-2% de la población mundial, es desconocida. El diagnóstico de la AR depende fundamentalmente de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Una prueba serológica que se utiliza habitualmente es la determinación de los factores reumatoides (FR) en el suero. Los FR son anticuerpos dirigidos contra la región Fc de los anticuerpos de la clase IgG humana. Sin embargo, estos anticuerpos están también presentes en un porcentaje relativamente alto en otras enfermedades autoinmunes, en infecciones y en hasta el 15% de la población sana.

Se han encontrado anticuerpos de naturaleza más específica en el suero de pacientes con AR (véase una revisión en (1)). Se han descrito varios péptidos sintéticos cíclicos reconocidos específicamente por los autoanticuerpos del suero de pacientes con AR (2). Estos péptidos se han usado posteriormente en un EIA para la detección de autoanticuerpos específicos de la AR (2). Los estudios de evaluación clínica demostraron que el EIA era positivo en un número significativo de sueros de pacientes con AR bien definidos, con una excelente especificidad respecto a los controles con otras enfermedades (2-7). Se encontró valor diagnóstico y pronóstico para la medición de los anticuerpos reactivos frente a los péptidos citrulinados cíclicos (anti-PCC) en relación con la afectación articular y el daño radiológico en la AR precoz (6, 8-13). Pueden detectarse anticuerpos anti-PCC años antes del desarrollo de síntomas clínicos (13). La prueba CCPoint® ofrecida por Euro-Diagnostica es un inmunoensayo de flujo lateral rápido para la detección de anticuerpos anti-PCC en sangre entera capilar humana. La prueba se basa en péptidos sintéticos muy purificados con residuos de citrulina y es una adición valiosa al diagnóstico de la AR. La sensibilidad y la especificidad del ensayo son iguales al ELISA anti-PCC Immunoscan RA (Euro-Diagnostica).

PRINCIPIO DEL TEST CCPoint®

La prueba CCPoint® es un inmunoensayo de flujo lateral basado en oro coloidal. Los péptidos citrulinados cíclicos reactivos se inmovilizan como una línea discreta en una membrana porosa situada en la zona de prueba.

El reactivo de detección, consistente en partículas de oro coloidal conjugadas con anti-IgG humana, se deposita dentro del dispositivo en la placa de conjugado.

En el procedimiento de ensayo, se añade una muestra de sangre al puerto de la muestra. Una membrana de separación de las células sanguíneas transfiere el líquido de la muestra a la membrana porosa. Después de una corta incubación, se añade tampón de desarrollo al puerto del tampón. Este tampón moviliza las partículas de oro coloidal de la placa de conjugado. Las partículas de oro y la muestra se mueven por capilaridad a través de la membrana.

Si la muestra contiene anticuerpos anti-PCC, se unirán a los antígenos peptídicos y aparecerá una línea roja en la zona de prueba (marcada con una T). Si la muestra no contiene anticuerpos anti-PCC, no aparecerá ninguna línea. Con cualquier muestra, debe aparecer una línea de control roja en la zona de control (marcada con una C). El control asegura que el oro coloidal revestido sigue estando activo.

MATERIALES Y REACTIVOS SUMINISTRADOS

Contenido del kit de prueba CCPoint®:

- 20 bolsas de aluminio con el dispositivo de prueba CCPoint®
- 22 pipetas desechables (20 µL)
- 2 frascos goteros, cada uno con 3 mL del tampón de desarrollo.
- 1 Instrucciones de uso del CCPoint®
- 1 Instrucciones de referencia rápida

MATERIALES/EQUIPO NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Lanceta de dedo
- Torunda preinyección
- Vendajes adhesivos
- Contenedores de material biopeligroso para la eliminación del material contaminado
- Guantes desechables
- Temporizador
- Cuando proceda; pipetas de precisión para dispensar 10 µL de suero o plasma

MANEJO Y ALMACENAMIENTO

- Conserve el kit a 2-25° C, en un lugar seco.
- Si se conserva en un refrigerador, permita que el dispositivo de prueba y el frasco de tampón alcancen la temperatura ambiente (18-25° C) antes de abrir y realizar las pruebas.
- Mantenga el dispositivo de prueba en su bolsa de aluminio hasta su uso.
- No use los reactivos caducados.
- No mezcle números de lote diferentes.
- No congele el kit.
- El contenido del kit es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la caja exterior.

PRECAUCIONES

- Exclusivamente para uso diagnóstico in vitro.
- Los resultados óptimos se obtienen con un seguimiento estricto de este protocolo.
- No use componentes pasada su fecha de caducidad y no mezcle componentes de diferentes lotes.
- Cada dispositivo de prueba sólo se puede usar una vez.
- No use una prueba CCPoint® si la bolsa de aluminio está dañada.
- Al realizar la prueba, lleve guantes desechables durante todo el procedimiento de prueba.
- Observe precauciones universales y otras prácticas adecuadas de laboratorio y de seguridad al recoger, manipular y desechar la sangre del paciente. Todas las muestras de sangre y los materiales usados (incluidos los guantes desechables) deben considerarse potencialmente peligrosos y manipularse del mismo modo que un agente infeccioso. Deben establecerse métodos adecuados de manipulación y eliminación según las normas locales, estatales y federales.

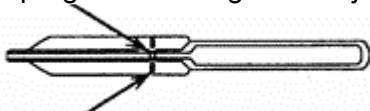
RECOGIDA DE MUESTRAS

El ensayo se recomienda para sangre entera capilar humana obtenida mediante pinchazo en el dedo. Pueden usarse también muestras de plasma con EDTA, plasma con heparina, plasma con citrato o suero.

No utilice muestras de sangre entera congeladas, muestras de plasma/suero muy hemolizadas o turbias.

Cuando se estudia sangre capilar, debe cargarse el puerto de la muestra usando una pipeta desechable (20 µL) suministrada con el kit. Se coloca una salida de aire en este tubo, colocada estratégicamente en la pared lateral de la pipeta para aportar la ventilación de aire y el control del volumen de muestra automáticos.

La purga de aire regula el flujo de volumen de muestra



La línea de llenado indica la muestra total recogida

La sangre capilar debe estudiarse inmediatamente después de tomarse la muestra.

Cuando se estudia plasma o suero, el puerto de la muestra debe cargarse pipeteando 10 µL de plasma o suero.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Preparaciones

Recoja los materiales necesarios: dispositivo de prueba en la bolsa de aluminio, tampón, temporizador, guantes, torunda preinyección y vendaje adhesivo.

Para el pinchazo del dedo: lanceta de sangre (seguridad) y pipeta desechable

Para muestras de suero o plasma, siga los procedimientos de laboratorio habituales.

2. Dispositivo de prueba

Cuando la prueba CCPoint® se ha conservado en un refrigerador, deje que la prueba alcance temperatura ambiente (18-25° C) antes de su uso.

¡NO abra la bolsa de aluminio hasta que esté listo para realizar la prueba!

Abra la bolsa de aluminio y coloque el dispositivo de prueba horizontalmente en una superficie limpia y equilibrada.

¡NO abra la sección abatible del dispositivo antes de realizar la prueba!

3. Preparar la muestra

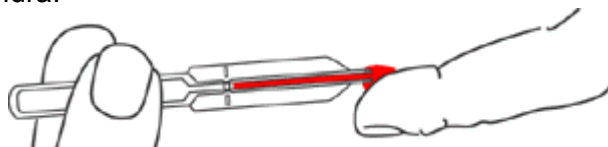
Sangre entera capilar mediante pinchazo en el dedo:

Limpie la punta del dedo con una torunda preinyección.

Use una lanceta de sangre (seguridad) para realizar un pinchazo en el dedo. Para hacerlo, siga las instrucciones de uso proporcionadas con cada lanceta.

Después de realizar el pinchazo del dedo, haga un masaje suave en el dedo en la dirección de la punta del dedo para producir una gotita de sangre en el lugar de la punción.

Sujete la pipeta desechable horizontalmente y toque la muestra de sangre con la punta de la pipeta. La acción capilar extraerá automáticamente la muestra hasta la línea de llenado y se detendrá.



Aviso: ¡El llenado es automático; nunca apriete la pipeta mientras toma la muestra!

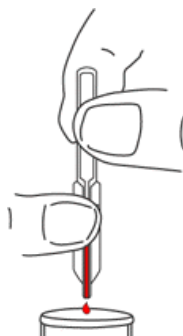
Para evitar la contaminación cruzada, use una nueva pipeta desechable para cada muestra.

4. Adición de la muestra

La muestra de sangre capilar (20 μ L) o de suero/plasma (10 μ L) debe aplicarse a la membrana de separación de la sangre del puerto de muestras.

Para expulsar la muestra de sangre capilar, alinee la punta de la pipeta desechable con el puerto de las muestras y apriete el bulbo. Si la muestra no sale, deslice un dedo sobre el agujero de purga y apriete el bulbo.

No deje que la pipeta desechable entre en contacto con la membrana.



Después de la aplicación de la muestra, **espere 30 segundos**.

Levante la sección abatible e inmediatamente añada 5 gotas de tampón de desarrollo al puerto del tampón.

Para evitar la contaminación, no deje que la punta del vial del tampón de desarrollo toque el dispositivo.

¡NO CIERRE LA TAPA MIENTRAS REALIZA LA PRUEBA!

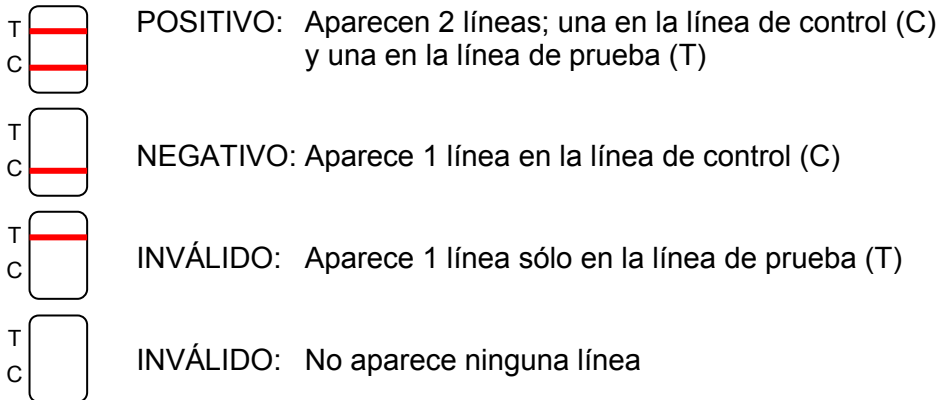
Manteniendo la tapa abierta, deje que la prueba se desarrolle durante 10 minutos.

5. Interpretación de los resultados de la prueba

Lea los resultados después de 10 minutos en buenas condiciones de iluminación.

Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una línea de control del procedimiento en el dispositivo, que está marcada con la 'C'. Si la línea de control no aparece en esta región a la terminación del ensayo, el resultado de la prueba es inválido y la muestra debe volverse a estudiar con un nuevo dispositivo de prueba.

Cuando la muestra es positiva para anticuerpos anti-PCC, será visible una segunda línea (la línea de prueba, marcada con una "T").



Positivo (dos líneas)

La aparición tanto de la línea de prueba (T) como de la línea control (C) en la ventana de resultados, independientemente de la intensidad relativa o absoluta, debe interpretarse como positivo. La prueba debe interpretarse como positiva incluso si la línea de prueba tiene un color más claro que la línea control, está incompleta en la anchura de la tira de prueba o tiene un color desigual. Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos anti-PCC en la muestra de sangre.

Negativo (una línea)

La aparición de sólo la línea de control (C) en la ventana de resultados indica que la prueba es negativa. Un resultado negativo debe interpretarse como un presunto negativo para la presencia de anticuerpos anti-PCC en la muestra de sangre.

Inválido

Una prueba con una línea de control no reactiva (C), independientemente de cualquier otra reactividad, se considera inválida.

La muestra de sangre se debe volver a estudiar en otro dispositivo de prueba.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Las personas que realizan esta prueba deben hacerlo sólo después de leer cuidadosamente y comprender este prospecto. Es necesario el cumplimiento estricto del protocolo para obtener resultados fiables de la prueba.

La prueba CCPoint® está diseñada para detectar anticuerpos anti-PCC en sangre capilar, plasma o suero no diluidos. Las soluciones diluidas de estas muestras y/o el uso de otros líquidos corporales pueden no dar resultados correctos.

Un resultado negativo de la prueba no impide la posibilidad de que el paciente esté en una fase de desarrollo de AR.

Un resultado positivo debe usarse conjuntamente con la evaluación clínica y otros procedimientos diagnósticos. Los valores obtenidos de este ensayo están pensados para ser sólo una ayuda en el diagnóstico. Cada médico debe interpretar los resultados conjuntamente con la historia del paciente, los hallazgos físicos y otros procedimientos diagnósticos.

Pueden verse anticuerpos anti-PCC elevados en personas sin pruebas de enfermedad clínica. También, algunas personas con AR pueden tener anticuerpos indetectables.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Tabla 1. Porcentaje de acuerdo del ensayo de CCPoint en comparación con la ELISA anti-CCP alternativa. Se ensayó un total de 1052 sueros retrospectivos, 596 de los cuales eran de pacientes con AR y 456 muestras eran de donantes de sangre aparentemente sanos. La tabla siguiente resume los resultados.

	ELISA alternativo			
		Positivo	Negativo	Número
Ensayo CCPoint	Positivo	439	3	442
	Negativo	1	609	610
	Número	440	612	1052

Porcentaje de concordancia positiva: 439/440 = 99,8% IC del 95% = 98,7 -100%
 Porcentaje de concordancia negativa: 609/612 = 99,5% IC del 95% = 98,6 -99,9%
 Porcentaje de concordancia global: 1048/1052 = 99,6% IC del 95% = 99,0 -99,9%

Tabla 2. Sensibilidad y especificidad clínicas. Se ensayó un total de 1815 sueros retrospectivos congelados con caracterización clínica. La tabla siguiente resume los resultados.

	n	negativo	positivo
Controles sanos (donantes de sangre)	456	452	4
AR	596	158	438
Enfermedades infecciosas	108	105	3
Enfermedades inflamatorias (no AR)	576	572	4
Muestras de rutina (no AR)	79	77	2
TOTAL	1815	1364	451

(Datos de archivo)

Sensibilidad clínica

AR 438/596 = 73,5% IC del 95% = 69,9 -77,0%

Especificidad clínica

Controles sanos (donantes de sangre)	452/456 = 99,1%	IC del 95% = 97,8 -99,8%
Enfermedades infecciosas	105/108 = 97,2%	IC del 95% = 92,1 -99,4%
Enfermedades inflamatorias (no AR)	572/576 = 99,3%	IC del 95% = 98,2 -99,8%
Muestras de rutina (no AR)	77/79 = 97,4%	IC del 95% = 91,2 -99,7%
Grupos sin AR combinados	1206/1219 = 98,9%	IC del 95% = 98,2 -99,4%

El intervalo de confianza (IC) del 95% se calculó usando el método exacto.

Exactitud

El rendimiento **entre pruebas** del ensayo CCPoint se evaluó usando muestras negativas, positivas bajas y positivas altas para anticuerpos frente a PCC. Seis muestras diferentes, estudiadas ocho veces cada una, por tres personas diferentes. Todos los resultados obtenidos tenían una concordancia del 100% con los resultados esperados.

Se evaluó el rendimiento **lote a lote** del ensayo CCPoint usando muestras negativas, positivas bajas y positivas altas de anticuerpos anti-PCC. Seis muestras diferentes estudiadas ocho veces cada una, con tres lotes diferentes. Todos los resultados obtenidos tuvieron una concordancia del 100% con los resultados esperados.

Estudio de interferencia

Se enriquecieron tres muestras positivas bajas con las siguientes concentraciones en muestras de suero; Bilirrubina F a 18,8 mg/dl, Bilirrubina C a 20 mg/dl, hemoglobina a 453 mg/dl, quilo a 23,6 U/dl y factor reumatoide a 55 UI/mL. Los datos indican que las concentraciones ensayadas no afectan a la exactitud de la prueba.

Para valorar la posible reactividad cruzada del antígeno de IgG PCC con otros autoanticuerpos, se ensayó un total de 498 muestras de diferente etiología. Muestras de pacientes diagnosticados de enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, LES, síndrome de Sjögren, artrosis, esclerodermia, esclerosis múltiple, EMTC, enfermedad inflamatoria intestinal, polimiositis/dermatomiositis, pacientes con enfermedades autoinmunitarias no AR y muestras que reaccionaban con MPO-ANCA, PR3-ANCA y ds-DNA. Los datos indican que los autoanticuerpos ensayados no muestran una reactividad cruzada significativa.

CCPoint[®]

Ein optisch lesbarer, qualitativer Lateral-Flow-Schnelltest
zum Nachweis spezifischer Autoantikörper gegen rheumatoide Arthritis
(Anti-CCP)
(Kat. Nr. CCPoint 20)
Nur für den Gebrauch durch Laborpersonal

VERWENDUNGSZWECK

Der CCPoint®-Test von Euro-Diagnostica ist ein optisch lesbarer, qualitativer Lateral-Flow-Schnelltest zum Nachweis von IgG-Antikörper auf cyclische Citrullin-Peptide (CCP) im humanen Kapillarvollblut, Plasma oder Serum. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit anderen labordiagnostischen und klinischen Befunden zur Unterstützung der Diagnose auf rheumatoide Arthritis (RA) bestimmt. Nur für den Gebrauch durch Laborpersonal. In-vitro-Diagnostikum.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine der häufigsten systemischen Autoimmunerkrankungen. Die Ätiologie dieser Erkrankung, von der 1-2 % der Weltbevölkerung betroffen sind, ist unbekannt. Die Diagnose der RA hängt in erster Linie von dem klinischen Erscheinungsbild der Krankheit ab. Ein serologischer Routinetest ist die Bestimmung der Rheumafaktoren (RF) im Serum. RF sind Antikörper, welche gegen die Fc-Region von Antikörpern der humanen IgG-Klasse gerichtet sind. RF weisen eine hohe Sensitivität auf, werden jedoch auch zu einem relativ hohen Prozentsatz bei anderen Autoimmunerkrankungen, Infektionen und bis zu 15 % bei gesunden Personen gefunden.

Es wurden in Seren von RA-Patienten noch weitere Antikörper mit einer höheren Spezifität nachgewiesen (siehe Übersicht unter 1). Es wurden eine Anzahl cyclischer synthetischer Peptide beschrieben, die gezielt von Autoantikörpern in Seren von RA-Patienten erkannt werden (2). Diese Peptide wurden in einem EIA zum Nachweis von RA-spezifischen Autoantikörpern (2) genutzt. Die klinische Evaluierung dieses Testsystems zeigte, dass für eine signifikante Anzahl gut definierter RA-Patienten eine ausgezeichnete Spezifität gegenüber Kontrollseren erreicht wurde (2-7). Es konnte weiterhin ein Zusammenhang zwischen Anti-CCP-Antikörpern und klinischen Manifestationen wie Gelenk- und radiologischen Schädigungen bei frühen Formen der RA gefunden werden, sodass dieser Parameter für die Prognose von RA-Patienten herangezogen werden kann (6, 8-13). Weiterhin können Anti-CCP-Antikörper Jahre vor dem Auftreten erster klinischer Symptome einer RA nachgewiesen werden (13). Der von Euro-Diagnostica angebotene CCPoint®-Test ist ein schneller Lateral-Flow-Immunoassay zum Nachweis von Anti-CCP-Antikörpern im humanen Kapillarvollblut. Der Test enthält hoch gereinigte synthetische Peptide mit Citrullin und stellt eine neue Methode für die serologische RA-Diagnostik dar. Die Empfindlichkeit und Spezifität des Tests gleicht dem Immunoscan RA Anti-CCP ELISA (Euro-Diagnostica).

PRINZIP DES CCPoint®-TESTS

Der CCPoint®-Test ist ein auf kolloidalem Gold basierender Lateral-Flow-Immunoassay. Reaktive cyclische Citrullin-Peptide werden als eine einzelne Linie auf einer in dem Testbereich liegenden, porösen Membran immobilisiert. Das aus kolloidalen, an Anti-Human-IgG konjugierte Goldpartikeln bestehende Nachweisreagenz wird in der Testvorrichtung auf dem Konjugat-Pad abgelagert. Im Testablauf wird der Probenvertiefung eine Blutprobe hinzugefügt. Eine Membran zur Trennung von Blutzellen überträgt die Probenflüssigkeit auf die poröse Membran. Nach einer kurzen Inkubationszeit wird der Puffervertiefung Laufpuffer hinzugefügt. Dieser Puffer mobilisiert die kolloidalen Goldpartikel aus dem Konjugat-Pad. Die Goldpartikel wandern mit der Probe mittels Kapillarkraft über die Membran. Mögliche, in der Probe enthaltene Anti-CCP-Antikörper binden an die Peptidantigene und lässt im Testbereich eine rote Linie (als T bezeichnet) erscheinen. Enthält die Probe keine Anti-CCP-Antikörper, erscheint keine rote Linie.

Mit jeder Probe sollte im Kontrollbereich eine rote Kontrolllinie (als C bezeichnet) erscheinen. Die Kontrolle gewährleistet, dass die Beschichtung aus kolloidalem Gold noch aktiv ist.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN UND REAGENZIEN

Das CCPoint®-Testkit enthält:

- 20 Folienbeutel mit der CCPoint®-Testvorrichtung
- 22 Einwegpipetten (20 µL)
- 2 Tropfflaschen mit je 3 mL Laufpuffer
- 1 CCPoint®-Gebrauchsanweisung
- 1 Kurzanleitung

NICHT MITGELIEFERTE, ABER ERFORDERLICHE MATERIALIEN/GERÄTSCHAFTEN

- Lanzetten für die Kapillarblutentnahme
- Desinfektionsmittel/Tupfer zur Blutentnahme
- Pflaster
- Behälter für biologischen Sondermüll zum Entsorgen kontaminierten Materials
- Einmalhandschuhe
- Zeitschaltuhr
- Ggf. Präzisionspipetten zur Abgabe von 10 µL Serum oder Plasma

HANDHABUNG UND LAGERUNG

- Das Kit trocken bei 2-25° C lagern.
- Bei Lagerung im Kühlschrank die Testvorrichtung und Pufferflasche vor dem Öffnen und Testen auf Raumtemperatur (18-25° C) bringen.
- Die Testvorrichtung bis zum Gebrauch im Folienbeutel lassen.
- Keine verfallenen Reagenzien benutzen.
- Keine unterschiedlichen Chargennummern verwenden.
- Den Kit nicht einfrieren.
- Der Inhalt des Kits ist bis zum auf der Außenverpackung angegebenen Verfallsdatum stabil.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zur In-vitro-Diagnostik.
- Für optimale Ergebnisse diese Anweisung ganz genau befolgen.
- Komponenten über das Verfallsdatum hinaus nicht mehr verwenden, bzw. Komponenten verschiedener Chargen nicht miteinander mischen.
- Jede Testvorrichtung nur einmal verwenden.
- Den CCPoint®-Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Während des gesamten Testvorgangs Einmalhandschuhe tragen.
- Bei Entnahme, Umgang und Entsorgung von Patientenblut allgemeine Vorsichtsmaßnahmen und andere geeignete Labor- und Sicherheitsmaßnahmen beachten. Alle Blutproben und benutzten Materialien (einschließlich Einmalhandschuhe) als potenziell gesundheitsgefährdend ansehen und wie infektiöses Material behandeln. Entsprechend der geltenden Vorschriften eine korrekte Handhabung und Entsorgung festlegen.

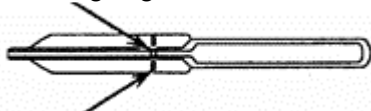
PROBENENTNAHME

Für diesen Test wird humanes Kapillarovollblut aus der Fingerbeere empfohlen. Es können ebenfalls EDTA-Plasma, Heparinplasma, Citratplasma oder Serumproben verwendet werden.

Kein eingefrorenes Vollblut, stark hämolytische oder trübe Plasma- bzw. Serumproben verwenden.

Bei Verwendung von Kapillarblut die Probenvertiefung mittels der mit dem Kit mitgelieferten Einmalpipette (20 µL) befüllen. Zur automatischen Belüftung und Kontrolle des Probenvolumens ist an diesem Röhrchen strategisch günstig an der Seitenwand der Pipette eine Belüftungsöffnung platziert.

Belüftung reguliert den Probenfluss.



Fülllinie zeigt an, dass Probe vollständig entnommen.

Kapillarblut sofort nach Entnahme testen.

Bei Verwendung von Plasma oder Serum die Probenvertiefung mit 10 µL Plasma oder Serum befüllen.

TESTABLAUF

1. Vorbereitungen

Alle benötigten Materialien zurecht legen: Testvorrichtung in Folienbeutel, Puffer, Zeitschaltuhr, Handschuhe, Desinfektionstupfer und Pflaster.

Zur Blutentnahme aus der Fingerbeere: Blut-(Sicherheits)-Lanzette und Einwegpipette. Halten Sie sich für Serum- und Plasmaproben an die Standardlaborpraxis.

2. Testvorrichtung

Den CCPoint®-Test, wenn er im Kühlschrank gelagert wurde, vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25° C) bringen.

Den Folienbeutel bis vor der unmittelbaren Durchführung des Tests **NICHT** öffnen!

Den Folienbeutel öffnen und die Testvorrichtung horizontal auf eine saubere, ebene Fläche legen.

Den aufklappbaren Deckel bis vor der unmittelbaren Durchführung des Tests **NICHT** öffnen!

3. Vorbereiten der Probe

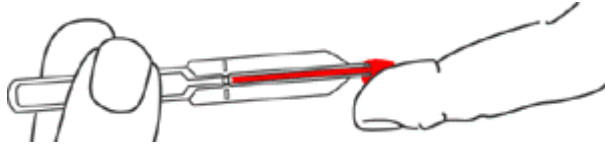
Kapillarvollblut aus der Fingerbeere:

Die Fingerbeere mit einem Desinfektionstupfer abwischen.

Mit einer Blut-(Sicherheits)-Lanzette in die Fingerbeere stechen. Folgen Sie dafür den Anweisungen der mit der Lanzette mitgelieferten Gebrauchsanweisung.

Massieren Sie nach dem Einstich sanft den Finger in Richtung Fingerspitze, um an der Punktionsstelle einen Blutstropfen zu erzeugen.

Halten Sie die Einwegpipette horizontal und berühren Sie die Blutprobe mit der Pipettenspitze. Durch die Kapillarkraft wird die Probe automatisch bis zum Füllstopp aufgezogen.



Vorsicht: Das Füllen geschieht automatisch. Während der Probenentnahme niemals auf die Pipette drücken.

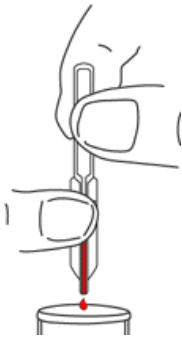
Nehmen Sie zur Verhinderung einer Kreuzkontamination für jede Probe eine neue Einmalpipette.

4. Probe hinzufügen

Die Kapillarblutprobe (20 μL) oder das Serum/Plasma (10 μL) auf die Bluttrennmembran der Probenvertiefung auftragen.

Die Spitze der Einmalpipette zum Ausstoßen der Kapillarblutprobe an der Probenvertiefung ausrichten und auf das Hütchen drücken. Gehen Sie mit dem Finger über das Lüftungsloch und drücken Sie auf das Hütchen, falls sich die Probe nicht ausführen lässt.

Die Einmalpipette nicht in Kontakt mit der Membran kommen lassen.



Warten Sie nach Applikation der Probe **30 Sekunden**.

Heben Sie den Flip-up-Teil an und geben Sie sofort 5 Tropfen Laufpuffer in die Puffervertiefung.

Vermeiden Sie eine Kontamination, indem Sie darauf achten, dass die Spitze des Pufferfläschchens nicht die Testvorrichtung berührt.

SOLANGE DER TEST LÄUFT, DEN DECKEL NICHT SCHLIESSEN!

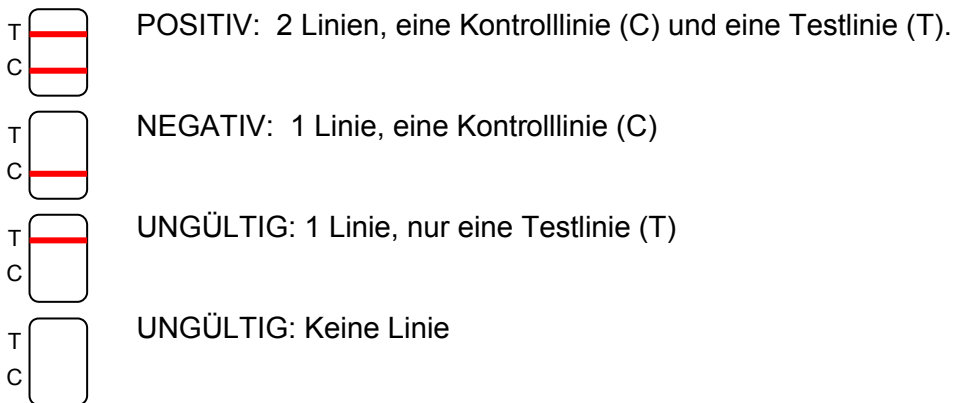
Lassen Sie bei geöffnetem Deckel den Test 10 Minuten laufen.

5. Interpretation der Testergebnisse

Lesen Sie nach 10 Minuten unter guten Lichtverhältnissen den Test ab.

Um die Gültigkeit des Tests zu gewährleisten, ist eine Verfahrenskontrolllinie in die Testvorrichtung eingebaut, die mit "C" markiert ist. Erscheint bei Testende in diesem Bereich keine Kontrolllinie, ist das Testergebnis ungültig und die Probe muss mit einer neuen Testvorrichtung erneut getestet werden.

Ist die Probe auf Anti-CCP-Antikörper positiv, erscheint eine zweite Linie (mit "T" markierte Testlinie).



Positiv (zwei Linien)

Das Erscheinen von Testlinie (T) und Kontrolllinien (C) im Ergebnisfenster ist unabhängig einer relativen oder absoluten Farbintensität als positiv zu bewerten. Der Test sollte auch dann als positiv interpretiert werden, wenn die Testlinie heller ist als die Kontrolllinie, nicht die gesamte Breite des Teststreifens einnimmt oder farblich nicht einheitlich ist. Ein positives Ergebnis weist auf die Anwesenheit von Anti-CCP-Antikörper in der Blutprobe hin.

Negativ (eine Linie)

Erscheint im Ergebnisfenster lediglich die Kontrolllinie (C), weist das auf ein negatives Testergebnis hin. Ein negatives Ergebnis ist als vermutlich negativ auf Anti-CCP-Antikörper in der Blutprobe zu interpretieren.

Ungültig

Ein Test ohne reaktive Kontrolllinie (C) ist unabhängig anderer Reaktivität als ungültig anzusehen.

Die Blutprobe sollte mit einer anderen Testvorrichtung wiederholt werden.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Personen, die diesen Test ausführen, müssen sich vorher genauestens mit dieser Gebrauchsanweisung vertraut machen. Zum Erhalt zuverlässiger Testergebnisse muss diese Anleitung genau befolgt werden.

Der CCPoint®-Test ist zum Nachweis von Anti-CCP-Antikörper in unverdünntem humanen Kapillarblut, Plasma oder Serum bestimmt. Verdünnte Lösungen dieser Proben und/oder die Verwendung anderer Körperflüssigkeiten kann möglicherweise zu nicht korrekten Ergebnissen führen.

Ein negatives Testergebnis schließt nicht die Möglichkeit aus, dass sich die RA beim Patienten in der Entwicklungsphase befindet.

Ein positives Ergebnis muss gemeinsam mit der klinischen Beurteilung und anderer diagnostischer Verfahren gesehen werden. Die mit diesem Test erzielten Werte sind nur zur Unterstützung der Diagnose gedacht. Der Arzt muss die Ergebnisse zusammen mit der Patientenanamnese, den Befunden der körperlichen Untersuchung und anderen diagnostischen Verfahren interpretieren.

Erhöhte Anti-CCP-Antikörper können bei Personen ohne Anhalt auf eine klinische Erkrankung gefunden werden. Auch können einige Personen mit RA über keine nachweisbaren Antikörper verfügen.

LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

Tabelle 1. Übereinstimmung in Prozent des CCPoint-Tests verglichen mit einem alternativen Anti-CCP ELISA Es wurden retrospektiv insgesamt 1052 tiefgefrorenen Seren getestet, davon waren 596 von RA-Patienten und 456 Proben von anscheinend gesunden Blutspendern. Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen.

	Alternativer ELISA			
		Positiv	Negativ	Gesamt
CCPoint-Test	Positiv	439	3	442
	Negativ	1	609	610
	Gesamt	440	612	1052

Übereinstimmung Positive (%): $439/440 = 99,8 \%$ 95 % CI = 98,7 – 100 %
 Übereinstimmung Negative (%): $609/612 = 99,5 \%$ 95 % CI = 98,6 – 99,9 %
 Übereinstimmung, gesamt (%): $1048/1052 = 99,6 \%$ 95 % CI = 99,0 – 99,9 %

Tabelle 2. Klinische Sensitivität und Spezifität Es wurden retrospektiv insgesamt 1815 eingefrorene Proben mit klinischen Eigenschaften getestet. Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen.

	n	Negativ	Positiv
Gesunde Kontrollpatienten (Blutspender)	456	452	4
RA	596	158	438
Infektionserkrankungen	108	105	3
Entzündliche Erkrankungen (nicht RA)	576	572	4
Routineproben (nicht RA)	79	77	2
GESAMT	1815	1364	451

(Daten liegen dem Hersteller vor)

Klinische Sensitivität:

RA 438/596 = 73,5 % 95 % CI = 69,9 – 77,0 %

Klinische Spezifität

Gesunde Kontrollpatienten (Blutspender) 452/456 = 99,1 % 95 % CI = 97,8 – 99,8 %

Infektionserkrankungen 105/108 = 97,2 % 95 % CI = 92,1 – 99,4 %

Entzündliche Erkrankungen (nicht RA) 572/576 = 99,3 % 95 % CI = 98,2 – 99,8 %

Routineproben (nicht RA) 77/79 = 97,4 % 95 % CI = 91,2 – 99,7 %

Nicht RA-Gruppen, kombiniert 1206/1219 = 98,9 % 95 % CI = 98,2 – 99,4 %

Der 95 % Vertrauensbereich (CI) wurde mit der exakten Methode errechnet.

Genauigkeit

Die **Inter-Assay**-Leistung des CCPoint-Tests wurde unter Verwendung von negativen, schwach positiven und stark positiven Proben auf Antikörper gegen Anti-CCP bewertet. Sechs verschiedene Proben wurden jeweils 8 Mal von drei verschiedenen Personen getestet. Die erzielten Ergebnisse stimmten alle 100 % mit den erwarteten Ergebnissen überein.

Die **Batch-to-Batch**-Leistung des CCPoint-Tests wurde unter Verwendung von negativen, schwach positiven und stark positiven Proben auf Antikörper gegen Anti-CCP bewertet. Sechs verschiedene Proben wurden jeweils 8 Mal mit drei verschiedenen Chargen getestet. Die erzielten Ergebnisse stimmten alle 100 % mit den erwarteten Ergebnissen überein.

Interferenzstudie

Drei schwach positive Proben wurden mit den folgenden Konzentrationen in Serumproben versetzt: Bilirubin F auf 18,8 mg/dl, Bilirubin C auf 20 mg/dl, Hämoglobin auf 453 mg/dl, Chylus auf 23,6 U/dl und Rheumafaktor auf 55 IU/mL. Die Daten weisen darauf hin, dass die getesteten Konzentrationen die Genauigkeit des Tests nicht beeinträchtigt.

Um eine mögliche Kreuzreaktion von CCP-IgG-Antigen mit anderen Autoantikörpern zu beurteilen, wurden insgesamt 498 Proben unterschiedlicher Ätiologie getestet. Proben von Patienten, die mit den Diagnosen M. Crohn, Colitis ulcerosa, SLE, Sjögren-Syndrom, Osteoarthritis, Sklerodermie, Multiple Sklerose, MCTD, entzündliche Darmerkrankung, Polymyositis/Dermatomyositis, nicht-RA Autoimmunpatienten und Proben, die mit MPO-ANCA, PR3-ANCA und ds-DNA reagieren. Daten weisen darauf hin, dass die getesteten Autoantikörper keine signifikante Kreuzreaktion zeigten.

CCPoint®

Test di flusso laterale rapido qualitativo a lettura visiva
per la determinazione degli autoanticorpi specifici dell'Artrite Reumatoide
(anti-CCP).
(Cat. Nr. CCPoint 20)
Destinato all'uso da parte di professionisti della sanità

USO PREVISTO

Il test CCPoint® di Euro-Diagnostica è un test di flusso laterale rapido e qualitativo a lettura visiva per la determinazione degli anticorpi IgG contro i peptidi citrullinati ciclici (CCP) presenti nel sangue umano intero capillare, nel plasma e nel siero. I risultati del test devono essere utilizzati come aiuto nella diagnosi dell'artrite reumatoide (AR) in combinazione con altri esami clinici e di laboratorio. Destinato esclusivamente all'uso da parte di professionisti della sanità. Per uso diagnostico in vitro.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

L'artrite reumatoide (AR) è una delle più comuni malattie autoimmuni sistemiche. Colpisce l'1-2% della popolazione mondiale e la sua eziologia è sconosciuta. La diagnosi della AR si basa principalmente sulle sue manifestazioni cliniche. Un test sierologico comunemente usato è la determinazione dei Fattori Reumatoidi nel siero. I Fattori Reumatoidi sono anticorpi diretti contro il frammento Fc degli anticorpi umani di classe IgG. Questi anticorpi sono comunque anche presenti in percentuali relativamente alte in altre malattie autoimmuni, in alcune infezioni e nel 15% di individui sani.

Anticorpi di natura più specifica sono stati osservati nel siero di pazienti affetti da AR (ved. (1) per un riepilogo). Un certo numero di peptidi sintetici ciclici sono stati riconosciuti in modo specifico dagli autoanticorpi presenti nel siero di pazienti affetti da AR (2). Questi peptidi sono stati usati per la messa a punto di un dosaggio immunoenzimatico per la determinazione di autoanticorpi specifici della AR (2). Studi clinici hanno dimostrato che il kit ha dato risultati positivi in un numero significativo di sieri di pazienti affetti da AR conclamata, con un'elevata specificità verso gli individui di controllo affetti dalla malattia (2-7). È stato riscontrato che il dosaggio degli anticorpi reattivi ai peptidi citrullinati ciclici (anti-CCP) ha valore sia diagnostico che prognostico in rapporto al coinvolgimento e al danno articolare rilevabile radiologicamente nella AR in fase precoce (6, 8-13). Gli anticorpi anti-CCP possono essere individuati con anni di anticipo rispetto allo sviluppo dei sintomi clinici (13). Il test CCPoint® proposto da Euro-Diagnostica è un test di flusso laterale rapido per la determinazione di anticorpi anti-CCP nel sangue umano intero capillare. Il test si basa su peptidi sintetici altamente purificati contenenti residui di citrullina ed è di notevole valore nella diagnosi della AR. La sensibilità e la specificità del test equivale al KIT ELISA anti-CCP Immunoscan AR (Euro-Diagnostica).

PRINCIPIO DEL TEST CCPoint®

Il test CCPoint® è un immunodosaggio a flusso laterale basato su oro colloidale. I peptidi citrullinati ciclici reattivi vengono immobilizzati sotto forma di linea discreta su una membrana porosa posizionata nella zona del test.

Il reagente impiegato per la determinazione, costituito da particelle di oro colloidale coniugate con anti-IgG umane, viene depositato all'interno del tampone di coniugato. Nella procedura del test viene aggiunto un campione di sangue alla porta del campione. Una membrana di separazione della cellula ematica trasferisce il fluido del campione sulla membrana porosa. Dopo una breve incubazione, viene aggiunto il tampone di corsa alla porta del tampone. Questo tampone mobilita le particelle di oro colloidale dal tampone di coniugato. Le particelle di oro e il campione migrano per azione capillare lungo la membrana. Se il campione contiene anticorpi anti-CCP, essi si legheranno ai peptidi-antigeni e una linea rossa apparirà nella zona del test (contrassegnata con T). Se il campione non contiene alcun anticorpo anti-CCP, non apparirà alcuna linea. In ogni campione dovrebbe comparire una linea di controllo rossa nella zona di controllo (contrassegnata con C). Il controllo assicura che l'oro colloidale rivestito sia ancora attivo.

MATERIALI E REAGENTI FORNITI

Contenuto del kit del test CCPoint®:

- 20 Confezioni con involucro protettivo contenenti il dispositivo del test CCPoint®
- 22 Pipette monouso (20 µL)
- 2 Bottigliette con contagocce, ognuna contenente 3 mL di tampone di corsa.
- 1 CCPoint® Istruzioni per l'uso
- 1 Guida rapida

MATERIALI/STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI

- Lancetta pungidito
- Tampone disinfettante pre-iniezione
- Bende adesive
- Contenitori idonei allo smaltimento di materiale contaminato e pericoloso
- Guanti usa e getta
- Timer
- Ove applicabile; pipette di precisione per distribuire 10 µL di siero o plasma

TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE

- Conservare il kit a 2-25° C, in un luogo asciutto.
- Se conservato in frigorifero, fare in modo che il dispositivo per il test e la bottiglia del tampone raggiungano la temperatura ambiente (18-25° C) prima di aprire ed effettuare il test.
- Rimuovere l'involucro protettivo solo prima dell'uso.
- Non utilizzare reagenti scaduti.
- Non mescolare numeri di lotto diversi.
- Non congelare il kit.
- Il contenuto del kit rimane stabile solo fino alla data di scadenza riportata sulla scatola esterna.

PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- I risultati ottimali si ottengono seguendo scrupolosamente questo protocollo.
- Non utilizzare i componenti dopo la data di scadenza e non mescolare componenti provenienti da lotti diversi.
- Ogni dispositivo per il test può essere utilizzato solo una volta.
- Non utilizzare il test CCPoint® se il relativo involucro protettivo non è integro.
- Quando si esegue il test, indossare guanti usa e getta durante tutta la procedura del test.
- Attenersi alle abituali precauzioni e alle altre regole relative alla sicurezza abitualmente seguite nei laboratori quando si preleva, si tratta e si smaltisce sangue umano. Tutti i campioni ematici e i materiali usati (compresi i guanti usa e getta) devono essere considerati come potenzialmente pericolosi e smaltiti come se fossero agenti infettivi. È necessario stabilire metodi corretti di trattamento e smaltimento in conformità con le normative locali, regionali e nazionali.

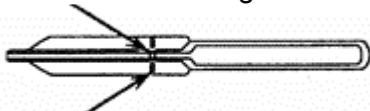
PRELIEVO DEI CAMPIONI

Il test è raccomandato per sangue umano capillare intero ottenuto mediante digitopuntura. Inoltre, si possono usare anche plasma EDTA, plasma eparina, plasma citrato o campioni di siero.

Non utilizzare campioni di sangue intero congelato, campioni fortemente emolizzati o campioni di plasma/siero torbido.

Quando si sottopone il sangue capillare a test, la porta del campione deve essere caricata utilizzando la pipetta monouso (20 μ L) fornita con il kit. Sulla parete della pipetta è stato strategicamente posto un foro di sfiato per fornire una ventilazione automatica e per il controllo del volume del campione.

Foro di sfiato che regola il volume del flusso del campione



Linea di riempimento che indica il campione totale prelevato

Il sangue capillare deve essere immediatamente sottoposto a test non appena prelevato. Quando si testa plasma o siero, la porta del campione deve essere caricata aspirando mediante pipetta 10 μ L di plasma o siero.

PROCEDURA DI ANALISI

1. Preparativi

Raccolta dei materiali necessari: Dispositivo del test chiuso nell'involucro protettivo, tampone, timer, guanti, tampone disinfettante pre-iniezione e benda adesiva.

Per digitopuntura: lancetta pungidito e pipetta monouso

Per campioni di siero o plasma seguire le procedure di laboratorio standard.

2. Dispositivo del test

Se il test CCPoint® è stato conservato in frigorifero, prima dell'uso è necessario attendere che raggiunga la temperatura ambiente (18-25° C).

NON aprire l'involucro protettivo fino a quando non si è pronti ad effettuare il test!

Aprire l'involucro protettivo e posizionare il dispositivo in orizzontale su una superficie pulita e piana.

NON aprire la sezione ribaltabile del dispositivo prima di effettuare il test!

3. Preparazione del campione

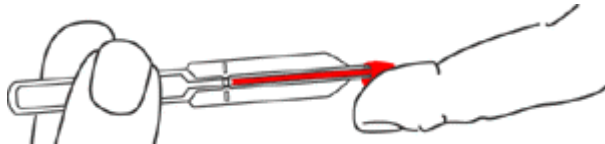
Sangue capillare intero ottenuto mediante digitopuntura:

Pulire il polpastrello con un tampone disinfettante pre-iniezione.

Usare una lancetta pungidito per pungere il polpastrello. A tal fine, seguire le istruzioni per l'uso che accompagnano la lancetta pungidito.

Dopo aver punto il polpastrello, massaggiare lievemente il dito in direzione del polpastrello per far fuoriuscire una goccia di sangue.

Tenere la pipetta usa e getta in orizzontale e mettere in contatto il puntale della pipetta con il campione di sangue. Automaticamente l'azione capillare porterà il sangue fino alla linea per poi fermarsi.



Attenzione: la pipetta si riempie automaticamente; non esercitare mai pressione sulla pipetta mentre si preleva il campione!

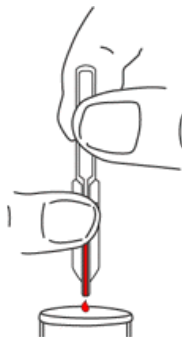
Per evitare una contaminazione incrociata, utilizzare una pipetta monouso nuova per ogni campione.

4. Aggiunta del campione

Il campione di sangue capillare (20 μ L) o di plasma (10 μ L) deve essere applicato alla membrana di separazione del sangue della porta del campione.

Per espellere il campione di sangue capillare, allineare il puntale della pipetta monouso con la porta del campione e premere sul bulbo. Se il campione non viene espulso, coprire con un dito il foro di sfiato e premere sul bulbo.

Non consentire alla pipetta monouso di entrare in contatto con la membrana.



Dopo aver applicato il campione, **attendere 30 secondi.**

Sollevare la sezione ribaltabile e aggiungere immediatamente 5 gocce di tampone di corsa nella porta del tampone.

Per evitare la contaminazione, fare in modo che il puntale della fiala del tampone di corsa non tocchi il dispositivo.

NON CHIUDERE IL COPERCHIO MENTRE SI EFFETTUA IL TEST!





Tenendo il coperchio aperto, lasciare che il test proceda per 10 minuti.

5. Interpretazione dei risultati del test

Leggere i risultati dopo 10 minuti in ambiente ben illuminato.

Per assicurare la validità del test, il dispositivo è provvisto di una linea di controllo procedurale contrassegnata con 'C'. Se la linea di controllo non appare in quest'area una volta completato il test, il risultato del test non è valido e il campione deve essere inserito in un altro dispositivo per un nuovo test.

Se il campione risulta positivo agli anticorpi anti-CCP, apparirà una seconda linea (la linea del test, contrassegnata con 'T').

	POSITIVO:	appaiono 2 linee; una è la linea di controllo (C) mentre l'altra è la linea del test (T)
	NEGATIVO:	appare 1 linea, cioè la linea di controllo (C)
	NON VALIDO:	appare solo 1 linea del test (T)
	NON VALIDO:	Non appare alcuna linea

Positivo (due linee)

Qualora nella finestrella del risultato appaiano sia le due linee del test (T) sia la linea di controllo (C), indipendentemente dall'intensità relativa o assoluta, il test va interpretato come positivo. Il test deve essere considerato positivo anche se la linea del test appare di colore meno intenso della linea di controllo, oppure non completa lungo la striscia del test o di colore non uniforme. Un risultato positivo indica la presenza di anticorpi anti-CCP nel campione ematico.

Negativo (una linea)

La comparsa della sola linea di controllo (C) nella finestrella del risultato indica che il test è negativo. Un risultato negativo deve essere interpretato come presumibilmente negativo per la presenza di anticorpi anti-CCP nel campione di sangue.

Non valido

Un test con una linea di controllo (C) non reattiva, indipendentemente da qualsiasi altra reattività, è da considerarsi non valido.

È necessario sottoporre nuovamente a test il campione ematico utilizzando un altro dispositivo.

LIMITI DELLA PROCEDURA

Il personale addetto all'effettuazione di questo test deve procedere solo dopo aver letto attentamente e compreso le presenti istruzioni. Per ottenere risultati affidabili è necessario attenersi scrupolosamente al protocollo.

Il test CCPoint® è stato studiato per individuare anticorpi anti-CCP nel sangue umano non diluito, nel plasma o nel siero. È possibile che soluzioni diluite di questi campioni e/o l'uso di altri fluidi corporei non producano risultati attendibili.

Un risultato negativo non esclude la possibilità che il paziente stia per sviluppare la AR.

Un risultato positivo deve essere utilizzato in combinazione con le procedure di valutazione clinica e altri procedimenti diagnostici. I valori ottenuti con questo test devono essere considerati solo come aiuto nella diagnosi. Ogni medico deve interpretare i risultati in funzione dell'anamnesi del paziente, degli esami fisici e di altri procedimenti diagnostici.

Livelli di anticorpi anti-CCP elevati possono essere riscontrati in soggetti senza alcuna evidenza di malattia clinica. Inoltre, è possibile che alcuni soggetti affetti da AR possiedano anticorpi non rilevabili.

CARATTERISTICHE DELLO SVOLGIMENTO DEL TEST

Tabella 1. Corrispondenza in percentuale del test CCPoint rispetto a ELISA anti-CCP alternativi. È stato analizzato un totale di 1052 sieri retrospettivi congelati, 596 provenienti da pazienti affetti da AR e 456 da donatori di sangue apparentemente sani. La tabella riportata di seguito riepiloga i risultati ottenuti.

	ELISA alternativi			
		Positivo	Negativo	Totale
Test CCPoint	Positivo	439	3	442
	Negativo	1	609	610
	Totale	440	612	1052

Corrispondenza percentuale positivi: 439/440 = 99,8% 95%CI= 98,7 - 100%
 Corrispondenza percentuale negativi: 609/612 = 99,5% 95%CI= 98,6 - 99,9%
 Corrispondenza percentuale complessiva: 1048/1052 = 99,6% 95% CI = 99,0 - 99,9%

Tabella 2. Sensibilità e specificità cliniche. È stato analizzato un totale di 1815 sieri retrospettivi congelati con caratterizzazione clinica. La tabella riportata di seguito riepiloga i risultati ottenuti.

	N	Negativi	Positivi
Soggetti di controllo sani (donatori di sangue)	456	452	4
AR	596	158	438
Malattie infettive	108	105	3
Malattie infiammatorie (non AR)	576	572	4
Campioni di routine (non AR)	79	77	2
TOTALE	1815	1364	451

(Dati in archivio)

Sensibilità clinica

AR 438/596 = 73,5% 95%CI= 69,9 - 77,0%

Specificità clinica

Soggetti di controllo sani (donatori di sangue)	452/456 = 99,1%	95%CI= 97,8 - 99,8%
Malattie infettive	105/108 = 97,2%	95%CI= 92,1 - 99,4%
Malattie infiammatorie (non AR)	572/576 = 99,3%	95%CI= 98,2 - 99,8%
Campioni di routine (non AR)	77/79 = 97,4%	95%CI= 91,2 - 99,7%
Gruppi misti non AR	1206/1219 = 98,9%	95%CI= 98,2 - 99,4%

L'intervallo di fiducia (CI) del 95% è stato calcolato utilizzando il metodo esatto.

Precisione

La performance inter-test del test CCPoint è stata valutata utilizzando campioni negativi, bassi positivi e alti positivi per anticorpi contro anti-CCP. Sono stati testati sei campioni diversi, otto volte ciascuno da tre persone diverse. Tutti i risultati ottenuti sono apparsi concordi al 100% con i risultati previsti.

La performance da lotto a lotto del test CCPoint è stata valutata usando campioni negativi, bassi positivi e alti positivi per anticorpi contro anti-CCP. Sono stati testati sei campioni diversi, otto volte ciascuno da tre lotti diversi. Tutti i risultati ottenuti sono apparsi concordi al 100% con i risultati previsti.

Studio di interferenza

Tre campioni bassi positivi sono stati aggiunti alle seguenti concentrazioni in campioni di siero; Bilirubina F a 18,8 mg/dL, Bilirubina C a 20 mg/dL, Emoglobina a 453 mg/dL, Chilo a 23,6 U/dL e Fattore Reumatoide a 55 IU/mL. I dati indicano che le concentrazioni analizzate non inficiano la precisione del test.

Per valutare la reattività incrociata potenziale dell'antigene IgG CCP con altri autoanticorpi, è stato analizzato un totale di 498 campioni di eziologia diversa. Campioni prelevati da pazienti affetti da Morbo di Crohn, colite ulcerosa, Lupus Eritematoso Sistemico (LES), sindrome di Sjögren, osteoartrite, sclerodermia, sclerosi multipla, MCTD, Malattia Infiammatoria Intestinale, polimiosite/dermatomiosite, pazienti autoimmuni non AR e campioni che reagivano con MPO-ANCA, PR3-ANCA e ds-DNA. I dati indicano che gli autoanticorpi analizzati non mostrano alcuna reattività incrociata significativa.

CCPoint[®]

Um teste de fluxo lateral rápido qualitativo, de leitura visual, para a detecção de auto-anticorpos específicos da Artrite Reumatóide (anti-CCP)

(Cat. N.º CCPoint 20)

Para utilização por profissionais de saúde

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O teste CCPoint® da Euro-Diagnostica é um teste de fluxo lateral rápido qualitativo, de leitura visual, para a detecção de anticorpos IgG contra os Peptídeos Citrulinados Cíclicos (CCP) presentes no sangue total, plasma ou soro dos capilares humanos. Os resultados do teste, utilizados juntamente com outros dados clínicos e laboratoriais, constituem um auxiliar no diagnóstico da Artrite Reumatóide (AR). Para utilização por profissionais de saúde. Para uso em diagnóstico *in vitro*.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A Artrite Reumatóide (AR) é uma das doenças autoimunes sistémicas mais frequentes. A etiologia da doença, que afecta até 1 a 2% da população mundial, é desconhecida. O diagnóstico de AR depende essencialmente da manifestação clínica da doença. O único teste serológico de rotina utilizado actualmente é a determinação dos factores reumatóides (FR) no soro. Os factores reumatóides são anticorpos dirigidos contra a fracção Fc dos anticorpos da classe das IgG humanas. Contudo, estes anticorpos também estão presentes em percentagens relativamente elevadas noutras doenças autoimunes, em infecções e em até 15% dos indivíduos saudáveis.

Anticorpos de uma natureza mais específica também foram detectados em soros de doentes com AR (ver (1) para uma exposição sumária). Foram descritos vários peptídeos sintéticos cíclicos que são especificamente reconhecidos por auto-anticorpos presentes nos soros de doentes com AR (2). Estes peptídeos foram utilizados num ensaio imunoenzimático (EIA) para a detecção de auto-anticorpos específicos da AR (2). Estudos de avaliação clínica revelaram que o EIA foi positivo num número significativo de soros de doentes com AR bem definida, com uma especificidade elevada em relação à de controlos de outras doenças (2-7). Verificou-se o valor diagnóstico e prognóstico da determinação de anticorpos reactivos anti-Peptídeos Citrulinados Cíclicos (anti-CCP) em relação com o envolvimento articular e a lesão radiológica na AR precoce (6, 8-13). Os anticorpos anti-CCP podem ser detectados anos antes do desenvolvimento dos sintomas clínicos (13). O teste CCPoint® oferecido pela Euro-Diagnostica é um imunoensaio de fluxo lateral rápido para a detecção de anticorpos anti-CCP no sangue total dos capilares humanos. O teste baseia-se em peptídeos sintéticos altamente purificados contendo resíduos de citrulina e constitui uma adição valiosa para o diagnóstico da AR. A sensibilidade e a especificidade do ensaio igualam as do ensaio Immunoscan RA anti-CCP ELISA (Euro-Diagnostica).

PRINCÍPIO DO TESTE CCPoint®

O teste CCPoint® é um imunoensaio de fluxo lateral à base de ouro coloidal. Os peptídeos citrulinados cíclicos reactivos são imobilizados sob a forma de uma linha discreta numa membrana porosa situada na zona de teste.

O reagente de detecção, que consiste em partículas de ouro coloidal conjugadas com IgG anti-humana, deposita-se no interior do dispositivo sobre a superfície do conjugado. No procedimento do ensaio, adiciona-se uma amostra de sangue no receptáculo da amostra. Uma membrana de separação das células sanguíneas transfere o fluido da amostra sobre a membrana porosa. Após uma incubação de curta duração, adiciona-se o tampão de corrida no receptáculo do tampão. Este tampão mobiliza as partículas de ouro coloidal da camada de conjugado. As partículas de ouro e a amostra deslocam-se por força capilar através da membrana.

Se a amostra contiver anticorpos anti-CCP, estes ligar-se-ão aos antígenos peptídicos e aparecerá uma linha vermelha na zona de teste (marcada com T). Se a amostra não contiver anticorpos anti-CCP não aparecerá nenhuma linha. Uma linha de controlo vermelha deve aparecer na zona de controlo (marcada com C) com todas as amostras. O controlo assegura que o ouro coloidal de revestimento está ainda activo.

MATERIAIS E REAGENTES FORNECIDOS

Conteúdo do *kit* do teste CCPoint®:

- 20 bolsas de alumínio contendo o dispositivo do teste CCPoint®
- 22 pipetas descartáveis (20 µL)
- 2 frascos conta-gotas, contendo cada 3 mL de tampão de corrida
- 1 Instruções de Utilização de CCPoint®
- 1 Instruções de Referência Rápida

MATERIAL/EQUIPAMENTO NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- Lanceta
- Compressa pré-injecção
- Pensos adesivos
- Recipientes de bioriscos para eliminação de material contaminado
- Luvas descartáveis
- Cronómetro
- Quando aplicável, pipetas de precisão para dispensar 10 µL de soro ou plasma

MANUSEAMENTO E CONSERVAÇÃO

- Conserve o *kit* a 2-25° C, num local seco.
- Se conservado num frigorífico, deixe o dispositivo de teste e o frasco de tampão atingirem a temperatura ambiente (18-25° C) antes de abrir e efectuar o teste.
- Mantenha o dispositivo de teste na sua bolsa de folha de alumínio até ser utilizado.
- Não utilize reagentes cujo prazo de validade expirou.
- Não misture lotes de números diferentes.
- Não congele o *kit*.
- O conteúdo do *kit* é estável até ao prazo de validade impresso na caixa exterior.

PRECAUÇÕES

- Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Obtêm-se resultados óptimos aderindo rigorosamente a este protocolo.
- Não utilize componentes cujo prazo de validade expirou e não misture componentes de lotes diferentes.
- Cada dispositivo de teste só pode ser utilizado uma vez.
- Não utilize um teste CCPoint® se a bolsa de folha de alumínio estiver danificada.
- Quando efectuar o teste, use luvas descartáveis durante todo o procedimento de teste.
- Siga as precauções universais e outras práticas de laboratório e de segurança apropriadas durante a colheita, manipulação e eliminação do sangue de doentes. Todas as amostras de sangue e materiais utilizados (incluindo as luvas descartáveis) devem ser considerados como potencialmente perigosos, devendo ser manipulados da mesma maneira que um agente infeccioso. A manipulação correcta e métodos de disposição adequados devem ser estabelecidos de acordo com os regulamentos locais.

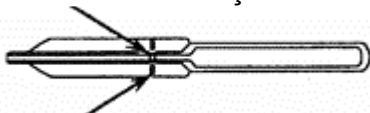
COLHEITA DE AMOSTRAS

O ensaio é recomendado para o sangue total dos capilares humanos obtido por picada no dedo. Também se podem utilizar amostras de plasma com EDTA, plasma heparinizado, plasma citratado ou amostras de soro.

Não utilize amostras de sangue total congelado, amostras de plasma ou soro nitidamente hemolisadas ou turvas.

Quando é analisado sangue capilar, o receptáculo da amostra deve ser carregado utilizando a pipeta descartável (20 µL) fornecida com o *kit*. O tubo da pipeta dispõe de um orifício de saída de ar, situado estrategicamente na sua parede lateral, que permite a ventilação automática de ar e o controlo do volume da amostra.

O orifício de ventilação de ar regula o volume do fluxo da amostra



A linha de enchimento indica a amostra total colhida

O sangue capilar deve ser analisado imediatamente após a colheita da amostra.

Nos casos em que é analisado plasma ou soro, o receptáculo da amostra deve ser carregado pipetando 10 µL de plasma ou soro.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. Preparação

Reúna os materiais necessários: o dispositivo de teste na bolsa de folha de alumínio, o tampão, o cronómetro, luvas, a compressa pré-injecção e o penso adesivo.

Para a picada no dedo: lanceta de sangue (de segurança) e pipeta descartável

Para as amostras de soro ou plasma, siga os procedimentos laboratoriais padrão.

2. Dispositivo de teste

Se o teste CCPoint® tiver sido conservado num frigorífico, deixe-o atingir a temperatura ambiente (18-25° C) antes de utilizar.

NÃO abra a bolsa de folha de alumínio até estar pronto a efectuar o teste!

Abra a bolsa de folha de alumínio e coloque o dispositivo de teste na horizontal sobre uma superfície nivelada e limpa.

NÃO abra a tampa de abertura fácil do dispositivo antes da execução do teste!

3. Preparação da amostra

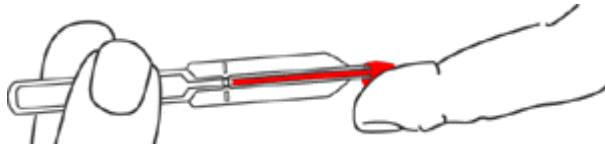
Sangue total capilar por picada no dedo:

Limpe a ponta do dedo com a compressa pré-injecção.

Utilize uma lanceta de sangue (de segurança) antes de efectuar a picada no dedo. Para o fazer, siga as instruções de utilização fornecidas, específicas da lanceta.

Após efectuar a picada no dedo, massage suavemente o dedo na direcção da ponta de modo a produzir uma gota de sangue no local da punção.

Segure na pipeta descartável horizontalmente e toque com a ponta da pipeta na amostra de sangue. A acção capilar aspira automaticamente a amostra até à linha de enchimento e pára.



Atenção: O enchimento é automático; nunca comprima a pipeta enquanto estiver a efectuar a colheita!

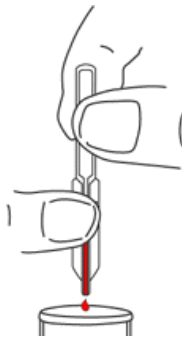
Para evitar a contaminação cruzada, utilize uma pipeta descartável nova para cada amostra.

4. Adição da amostra

A amostra de sangue capilar (20 μ L) ou de soro/plasma (10 μ L) deve ser aplicada sobre a membrana de separação sanguínea do receptáculo da amostra.

Para expelir a amostra de sangue capilar, alinhe a ponta da pipeta descartável com o receptáculo da amostra e comprima a pêra. Se a amostra não sair, deslize um dedo sobre o orifício de ventilação de ar e comprima a pêra.

Não deixe que a pipeta descartável entre em contacto com a membrana.



Após a aplicação da amostra, **aguarde 30 segundos**.

Levante a tampa de abertura fácil e adicione imediatamente 5 gotas de tampão de corrida no receptáculo do tampão.

Para evitar a contaminação, não deixe que a ponta do frasco de tampão de corrida toque no dispositivo.

NÃO FECHÉ A TAMPA ENQUANTO ESTIVER A EXECUTAR O TESTE!





Mantenha a tampa aberta e deixe o teste correr durante 10 minutos.

5. Interpretação dos resultados do teste

Leia os resultados após 10 minutos em boas condições de iluminação.

Para assegurar a validade do ensaio, é incorporada no dispositivo uma linha de controlo do procedimento que está marcada com "C". Se, na altura da conclusão do teste, a linha de controlo não aparecer nesta zona, o resultado do teste é inválido e a amostra deve ser novamente analisada com um novo dispositivo de teste.

Quando a amostra é positiva para anticorpos anti-CCP, visualizar-se-á uma segunda linha (a linha de teste marcada com "T").

	POSITIVO: aparecem 2 linhas; uma na linha de controlo (C) e outra na linha de teste (T)
	NEGATIVO: aparece 1 linha na linha de controlo (C)
	INVÁLIDO: aparece 1 linha apenas na linha de teste (T)
	INVÁLIDO: não aparece nenhuma linha

Positivo (duas linhas)

O aparecimento das duas linhas de teste (T) e de controlo (C) na janela de resultados, independentemente da sua intensidade relativa ou absoluta, deve ser interpretado como um resultado positivo. O teste deve ser interpretado como positivo mesmo se a linha de teste tiver uma cor menos intensa do que a linha de controlo, estiver incompleta no sentido da largura da tira de teste ou se não tiver uma cor uniforme. Um resultado positivo indica a presença de anticorpos anti-CCP na amostra de sangue.

Negativo (uma linha)

O aparecimento apenas da linha de controlo (C) na janela de resultados indica que o teste é negativo. Um resultado negativo deve ser interpretado como um pressuposto resultado negativo quanto à presença de anticorpos anti-CCP na amostra de sangue.

Inválido

Considera-se inválido um teste com uma linha de controlo (C) não reactiva, independentemente de qualquer outra reactividade.

A amostra de sangue deve ser novamente analisada noutro dispositivo de teste.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

As pessoas que realizam este teste devem fazê-lo só depois de lerem atentamente e compreenderem este folheto informativo. É necessária a adesão rigorosa ao protocolo para se obterem resultados de teste fiáveis.

O teste CCPoint® foi concebido para detectar anticorpos anti-CCP no sangue, plasma ou soro não diluídos de capilares humanos. As soluções diluídas destes espécimes e /ou a utilização de outros fluidos orgânicos podem não produzir resultados correctos.

Um resultado de teste negativo não exclui a possibilidade de que o doente esteja numa fase de desenvolvimento de AR.

Um resultado positivo deve ser utilizado juntamente com a avaliação clínica e com outros procedimentos de diagnóstico. Os valores obtidos com este ensaio constituem apenas um auxiliar do diagnóstico. Os médicos devem interpretar os resultados juntamente com a história clínica do doente, exame físico e outros procedimentos de diagnóstico.

Podem observar-se valores elevados de anticorpos anti-CCP em indivíduos sem evidência de doença clínica. Além disso, algumas pessoas com AR podem ter anticorpos não detectáveis.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Tabela 1. Concordância em percentagem do ensaio CCPoint comparado com o ensaio alternativo por ELISA anti-CCP Foi analisado um total de 1052 soros retrospectivos congelados, dos quais 596 eram de doentes com AR e 456 amostras eram de dadores de sangue aparentemente saudáveis. A tabela seguinte resume os resultados.

	ELISA alternativo			
		Positivos	Negativos	Total
Ensaio CCPoint	Positivos	439	3	442
	Negativos	1	609	610
	Total	440	612	1052

Concordância em percentagem de positivos: 439/440 = 99,8% IC 95% = 98,7 - 100%
 Concordância em percentagem de negativos: 609/612 = 99,5% IC 95% = 98,6 - 99,9%
 Concordância em percentagem do total: 1048/1052 = 99,6% IC 95% = 99,0 - 99,9%

Tabela 2. Sensibilidade e especificidade clínicas Foi analisado um total de 1815 soros retrospectivos congelados, com caracterização clínica. A tabela seguinte resume os resultados.

	n	negativos	positivos
Controlos saudáveis (dadores de sangue)	456	452	4
AR	596	158	438
Doenças infecciosas	108	105	3
Doenças inflamatórias (não AR)	576	572	4
Amostras de rotina (não AR)	79	77	2
TOTAL	1815	1364	451

(Dados em arquivo)

Sensibilidade clínica

AR 438/596 = 73,5% IC 95% = 69,9 - 77,0%

Especificidade clínica

Controlos saudáveis (dadores de sangue) 452/456 = 99,1% IC 95% = 97,8 - 99,8%

Doenças infecciosas 105/108 = 97,2% IC 95% = 92,1 - 99,4%

Doenças inflamatórias (não AR) 572/576 = 99,3% IC 95% = 98,2 - 99,8%

Amostras de rotina (não AR) 77/79 = 97,4% IC 95% = 91,2 - 99,7%

Grupos combinados não AR 1206/1219 = 98,9% IC 95% = 98,2 - 99,4%

O intervalo de confiança de 95% (IC) foi calculado utilizando o método exacto.

Exactidão

O desempenho **entre ensaios** do ensaio CCPoint foi avaliado utilizando amostras negativas, fracamente positivas e fortemente positivas para anticorpos anti-CCP. Seis amostras diferentes foram analisadas oito vezes cada, por três pessoas diferentes. Todos os resultados obtidos tinham uma concordância de 100% com os resultados previstos.

O desempenho de **lote para lote** do ensaio CCPoint foi avaliado utilizando amostras negativas, fracamente positivas e fortemente positivas para anticorpos anti-CCP. Seis amostras diferentes foram analisadas oito vezes cada, com três lotes diferentes. Todos os resultados obtidos tinham uma concordância de 100% com os resultados previstos.

Estudo de interferências

Três amostras fracamente positivas foram carregadas para as seguintes concentrações em amostras de soro com bilirrubina F a 18,8 mg/dl, bilirrubina C a 20 mg/dl, hemoglobina a 453 mg/dl, quilo a 23,6 U/dl e factor reumatóide a 55 UI/mL. Os dados indicam que as concentrações analisadas não afectam a exactidão do teste.

Com o objectivo de avaliar a reactividade cruzada potencial do antigénio IgG anti-CCP com outros auto-anticorpos, foi analisado um total de 498 amostras de etiologias diferentes. Amostras de doentes diagnosticados com doença de Crohn, colite ulcerosa, lúpus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, osteoartrite, esclerodermia, esclerose múltipla, doença mista do tecido conjuntivo, doença inflamatória intestinal, polimiosite/dermatomiosite, doentes autoimunes sem AR e amostras reagindo com MPO-ANCA, PR3-ANCA e ds-DNA. Os dados indicam que os auto-anticorpos analisados não apresentam reactividade cruzada significativa.

CCPoint[®]

En visual, kvalitativ og hurtig lateral-flowtest
til bestemmelse af specifikke antistoffer mod rheumatoid arthritis
(anti-CCP)
(Kat. nr. CCPoint 20)
Til brug af sundhedsfaglige personer

TILSIGTET BRUG

Euro-Diagnostica CCPoint®-test er en visual, kvalitativ og hurtig lateral-flowtest til bestemmelse af IgG-antistoffer mod cyklisk citrullinerede peptider (CCP) i humant kapillært fuldblod, plasma eller serum. Testens resultater bruges som en hjælp til diagnosticering af rheumatoid arthritis (RA), sammen med andre laboratorieresultater og kliniske fund. Til brug af sundhedsfaglige personer. Til in vitro diagnostisk brug.

RESUMÉ OG FORKLARING

Rheumatoid arthritis (RA) er en af de mest almindelige systemiske autoimmunsygdomme. Ætiologien til sygdommen, som rammer op til 1-2% af verdens befolkning, kendes ikke. Diagnosen på RA afhænger primært af sygdommens manifestation. En serologisk test, som rutinemæssigt anvendes, er bestemmelsen af rheumatoid faktorer (RF) i serum. RF er antistoffer, der er rettet mod Fc-delen af antistoffer i den humane IgG-klasse. Disse antistoffer findes imidlertid også i relative høje procenttal ved andre autoimmune sygdomme, infektioner og i op til 15% af raske personer.

Antistoffer af en mere specifik art er ligeledes blevet fundet i sera hos RA-patienter (se (1) for en oversigt). Et antal cykliske, syntetiske peptider er blevet beskrevet at være særligt genkendt af autoantistoffer i sera fra RA-patienter (2). Disse peptider er blevet brugt i en EIA til bestemmelse af RA-specifikke autoantistoffer (2). Kliniske evalueringsundersøgelser har vist, at EIA var positiv i et signifikant antal af veldefinerede RA-patientsera med en høj specificitet mod sygdomskontroller (2-7). En diagnostisk og prognostisk værdi til måling af antistoffer, der er reaktive mod cyklisk citrullinerede peptider (anti-CCP), blev fundet i relation til ledinvolvering og radiologisk skade i tidlig RA (6, 8-13). Anti-CCP-antistoffer kan påvises år inden udviklingen af kliniske symptomer (13). Den CCPoint®-test som Euro-Diagnostica tilbyder, er en hurtig lateral flow-immunoassay til bestemmelse af anti-CCP antistoffer i humant kapillært fuldblod. Testen er baseret på højrensedede syntetiske peptider, der indeholder rester af citrulline og er et værdifuldt tillæg til diagnosticering af RA. Analysens følsomhed og specificitet svarer til Immunoscan RA anti-CCP ELISA (Euro-Diagnostica).

CCPoint® TESTENS PRINCIP

CCPoint®-testen er en kolloid guld-baseret lateral flow-immunoassay. Reaktive cykliske citrullinerede peptider immobiliseres som en diskret linie på en porøs membran, der er placeret i testzonen.

Påvisningsreagensen, der består af kolloide guldpartikler konjugeret til anti-human IgG, anbringes inden i anordningen på konjugat-puden.

I analyseprocedure bliver en blodprøve tilsat til prøveporten. En blodcelle-separeringsmembran overfører prøvevæsken til den porøse membran. Efter en kort inkubation tilsættes der running buffer til bufferporten. Denne buffer mobiliserer de kolloide guldpartikler fra konjugatpuden. Guldpartiklerne og prøven bevæger sig hen over membranen ved hjælp af kapillærkraft.

Hvis prøven indeholder anti-CCP-antistoffer, vil de binde sig til peptidantigenene og en rød linie vil komme til syne i testzonen (afmærket T). Hvis prøven ikke indeholder nogen anti-CCP-antistoffer, vil der ikke fremkomme nogen linie. En rød kontrollinie skulle komme til syne i kontrolzonen (afmærket C) med alle prøver. Kontrollen sikrer, at det belagte kolloide guld stadig er aktivt.

REAGENSER OG MEDFØLGENDE MATERIALER

CCPoint® testkittet indeholder:

- 20 folieposer, der indeholder CCPoint® testanordninger
- 22 engangspipetter (20 µL)
- 2 dråbeflasker, der hver indeholder 3 mL running buffer.
- 1 CCPoint® brugsvejledning
- 1 hurtig-referencevejledning

NØDVENDIGE MATERIALER/ Udstyr, der ikke medfølger .

- Finger-lancet
- Før-injektion swab
- Klæbebandage
- Biofare-beholdere til bortskaffelse af kontamineret materiale
- Engangshandsker
- Timer
- Præcisionspipetter til dispensering af 10 µL serum eller plasma, hvis behørigt

HÅNDBTERING OG OPBEVARING

- Kittet skal opbevares ved 2-25° C på et tørt sted.
- Hvis det opbevares i køleskab skal testanordningen og bufferflasken nå op på stuetemperatur (18-25° C), før de åbnes og testen udføres.
- Testanordningen skal opbevares i folieposen, indtil den skal bruges.
- Man må ikke bruge ikke reagenser efter disses udløbsdato.
- Man må ikke blande forskellige partinumre.
- Kittet må ikke nedfryses.
- Kit-indholdet er stabilt indtil den udløbsdato, som er trykt på ydersiden af æsken.

FORHOLDSREGLER

- Kun til *in vitro* diagnostisk brug.
- For optimale resultater skal denne protokol overholdes strengt.
- Brug ikke komponenter efter disses udløbsdato, og bland ikke komponenter fra forskellige partier.
- Hver enkelt testanordning kan kun bruges én gang.
- Man må ikke bruge en CCPoint® test, hvis folieposen er beskadiget.
- Brug engangshandsker under hele testproceduren, når testen udføres.
- Universelle forholdsregler og andre behørigt laboratorie- og sikkerhedspraksis skal overholdes ved indsamling, håndtering og bortskaffelse af patientblod. Alle blodprøver og brugte materialer (inklusive engangshandsker) skal betragtes som potentielt farlige og håndteres på samme måde, som infektiøse agenser. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder skal opstilles i overensstemmelse med lokale og statslige forordninger.

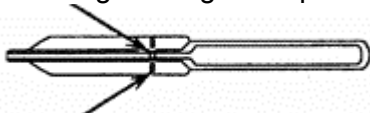
PRØVETAGNING

Analysen anbefales for humant kapillært fuldblod, der fås ved fingerprik. EDTA-plasma, heparin-plasma, citrat-plasma eller serumprøver kan også anvendes.

Der må ikke anvendes frosne fuldblodsprøver, stærkt hæmolyserede eller uklare plasma/serum-prøver.

Ved testning af kapillært blod skal prøveporten påfyldes med den engangspipette (20 µL), der medleveres med dette kit. Et udluftningshul i dette rør er strategisk placeret på siden af pipetten, for at give automatisk udluftning og prøvevolumenkontrol.

Udluftningshul regulerer prøveflowvolumen



Påfyldningslinie indikerer total indsamlet prøve

Kapillært blod skal testes umiddelbart efter prøven tages.

Ved testning af plasma eller serum skal prøveporten påfyldes ved at afpipettere 10 µL plasma eller serum.

ANALYSEPROCEDURE

1. Forberedelser

Saml de nødvendige materialer: Testanordning i foliepose, buffer, timer, engangshandsker, før-injektion swab og klæbebandage.

For fingerprik: blod- (sikkerheds-) lancet og engangspipette

Til serum- eller plasmaprøver følges de normale laboratorieprocedurer.

2. Testanordning

Hvis CCPoint® testen er blevet opbevaret i køleskab, skal den nå op på stuetemperatur (18-25° C) før brug.

Man **MÅ IKKE** åbne folieposen, før man er parat til at udføre testen!

Åbn folieposen og placér testanordningen vandret på en ren og plan flade.

Man **MÅ IKKE** åbne anordningens flip-op-del, før testen skal udføres!

3. Klargøring af prøve

Kapillært fuldblod ved fingerprik:

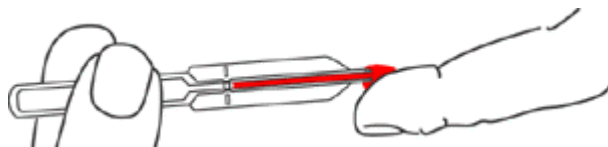
Rens fingerspidsen med en før-injektion swab.

Brug en blod- (sikkerheds-) lancet til at udføre et finger-prik. Dette gøres ved at følge den brugsvejledning, som medleveres med den anvendte lancet.

Efter finger-prikken skal man forsigtigt massere fingeren i retning af fingerspidsen for at producere en dråbe blod på punkturstedet.

Hold engangspipetten vandret og rør blodprøven med spidsen af pipetten.

Kapillærvirkningen vil automatisk trække prøven op til påfyldningslinien og stoppe.



Forsigtig: Påfyldningen sker automatisk; man må aldrig trykke på pipetten under prøvetagning!

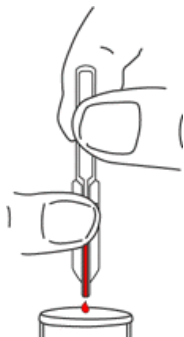
For at undgå krydskontaminering skal der bruges en ny engangspipette for hver enkelt prøve.

4. Tilsætning af prøve

Kapillærblodprøve (20 μ L) eller serum/plasma (10 μ L) skal tilsættes på prøveportens blodsepareringsmembran.

For at uddrive kapillærblodprøven skal spidsen af engangspipetten placeres lige over prøveporten, hvorefter der trykkes på boblen. Hvis prøven ikke uddrives, skal man lade en finger glide henover udluftningshullet og trykke på boblen.

Engangspipetten må ikke komme i berøring med membranen.



Efter prøven er blevet tilsat, skal man **vente 30 sekunder**.

Løft flip-op delen og tilsæt øjeblikkeligt 5 dråber running buffer ind i bufferporten.

For at undgå kontaminering må man ikke lade spidsen af running buffer-hætteglasset berøre anordningen.

LÅGET MÅ IKKE LUKKES, MENS TESTEN ER I GANG!





Hold låget åbent og lad testen køre i 10 minutter.

5. Fortolkning af testresultater

Aflæs resultaterne efter 10 minutter under gode lysforhold.

For at sikre analysens validitet er der inkorporeret en procedure-kontrollinie i anordningen, der er afmærket 'C'. Hvis kontrollinien ikke kommer til syne i denne region ved analysens fuldførelse, vil testresultatet være ugyldigt og prøven skal så testes igen med en ny testanordning.

Hvis prøven er positiv over for anti-CCP-antistoffer, vil endnu en linie (testlinie, afmærket 'T') være synlig.

	POSITIV:	2 linier kommer til syne; en ved kontrollinien (C) og en ved testlinien (T)
	NEGATIV:	1 linie kommer til syne ved kontrollinien (C)
	UGYLDIG:	Kun 1 linie kommer til syne ved testlinien (T)
	UGYLDIG:	Ingen linier komme til syne

Positiv (to linier)

Hvis både testlinien (T) og kontrollinien (C) kommer til syne i resultatvinduet, skal resultatet anses for positivt uanset den relative eller absolutte intensitet. Testen skal fortolkes som positiv, selv hvis testlinien er lysere i farven end kontrollinien, er ufuldstændig hen over teststrimlens bredde eller endda ujævn i farven. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen af anti-CCP-antistoffer i blodprøven.

Negativ (en linie)

Hvis kun kontrollinien (C) kommer til syne i resultatvinduet indikerer det, at testen er negativ. Et negativt resultat skal fortolkes som foreløbig negativt for tilstedeværelse af anti-CCP-antistoffer i blodprøven.

Ugyldig

En test med en ikke-reaktiv kontrollinie (C) anses for ugyldig uanset enhver anden reaktivitet.

Blodprøven skal testes igen i en anden testanordning.

PROCEDUREBEGRÆNSNINGER

Personer, der udfører denne test, bør kun gøre dette efter at have læst pakkeindlægssedlen omhyggeligt og forstå den. Streng overholdelse af protokollen er nødvendigt for at sikre pålidelige testresultater.

CCPoint® testen er designet til at påvise anti-CCP-antistoffer i ufortyndet humant kapillærblod, plasma eller serum. Fortyndede opløsninger af disse prøver og/eller brug af andre legemsvæsker vil måske ikke give korrekte resultater.

Et negativt testresultat udelukker ikke muligheden for, at patienten er i en RA-udviklingsfase.

Et positivt resultat skal bruges sammen med klinisk evaluering og andre diagnostiske procedurer. Værdierne, der fås ved denne analyse, er kun beregnet til at bistå diagnosen. Hver enkelt læge må fortolke resultaterne sammen med patientens anamnese, fysiske fund og andre diagnostiske procedurer.

Forhøjede anti-CCP-antistoffer kan ses hos personer uden evidens på klinisk sygdom. Nogle personer med RA kan endvidere have ikke-påviselige antistoffer.

PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKKER

Tabel 1. Procent overensstemmelse af CCPoint analysen i sammenligning med alternativ anti-CCP ELISA. I alt 1052 frosne retrospektive sera blev analyseret, 596 af disse var fra RA-patienter og 456 prøver fra tilsyneladende raske bloddonorer. Den følgende tabel opsummerer resultaterne.

	Alternativ ELISA			
		Positiv	Negative	I alt
CCPoint analyse	Positiv	439	3	442
	Negativ	1	609	610
	I alt	440	612	1052

Positiv procent overensstemmelse: $439/440 = 99,8\%$ 95% CI = 98,7 - 100%
 Negativ procent overensstemmelse: $609/612 = 99,5\%$ 95% CI = 98,6 - 99,9%
 Samlet procent overensstemmelse: $1048/1052 = 99,6\%$ 95% CI = 99,0 - 99,9%

Tabel 2. Klinisk sensitivitet og specificitet. I alt 1815 frosne retrospektive sera med klinisk karakterisering blev analyseret. Den følgende tabel opsummerer resultaterne.

	n	negativ	positiv
Raske kontroller (bloddonorer)	456	452	4
RA	596	158	438
Infektiøse sygdomme	108	105	3
Inflammatoriske sygdomme (nonRA)	576	572	4
Rutineprøver (nonRA)	79	77	2
I ALT	1815	1364	451

(Arkiverede data)

Klinisk sensitivitet

RA 438/596 = 73,5% 95% CI = 69,9 -77,0%

Klinisk specificitet

Raske kontroller (bloddonorer)	452/456 = 99,1%	95% CI = 97,8 -99,8%
Infektiøse sygdomme	105/108 = 97,2%	95% CI = 92,1 -99,4%
Inflammatoriske sygd, (nonRA)	572/576 = 99,3%	95% CI = 98,2 -99,8%
Rutineprøver (nonRA)	77/79 = 97,4%	95% CI = 91,2 -99,7%
Komb. non-RA grupper	1206/1219 = 98,9%	95% CI = 98,2 -99,4%

95% konfidensintervallet (CI) blev beregnet med den eksakte metode.

Nøjagtighed

CCPoint-analysens **inter-analyse**-præstation blev evalueret med negative, lav-positive og høj-positive prøver for antistoffer mod anti-CCP. Seks forskellige prøver blev testet otte gange hver af tre forskellige personer. Alle de fundne resultater var 100% i overensstemmelse med de forventede resultater.

CCPoint-analysens **batch-til-batch**-præstation blev evalueret med negative, lav-positive og høj-positive prøver for antistoffer mod anti-CCP. Seks forskellige prøver blev testet otte gange hver med tre forskellige batches. Alle de fundne resultater var 100% i overensstemmelse med de forventede resultater.

Interferensundersøgelse

Tre lav-positive prøver blev opspædet til de følgende koncentrationer i serumprøver: Bilirubin F til 18,8 mg/dl, bilirubin C til 20 mg/dl, hæmoglobin til 453 mg/dl, chylus til 23,6 U/dl og rheumatoid faktor til 55 IU/mL. Dataene indikerer, at de analyserede koncentrationer ikke påvirker testens nøjagtighed.

For at vurdere potentiel krydsreaktivitet af CCP IgG-antigen med andre autoantistoffer blev i alt 498 prøver af forskellig ætiologi analyseret. Prøver fra patienter diagnosticeret med Crohns sygdom, ulcerativ colitis, SLE, Sjögrens syndrom, osteoarthritis, scleroderma, multipel sclerose, MCTD, inflammatorisk tarmsygdom, polymyositis/cermatomyositis, nonRA-autoimmune patienter og prøver, der reagerer med MPO-ANCA, PR3-ANCA og ds-DNA. Dataene indikerer, at de analyserede autoantistoffer ikke viser nogen signifikant krydsreaktivitet.

CCPoint®

En visuelt avlest, kvalitativ hurtigtest av lateral flow
for deteksjon av reumatoid artritt-spesifikke autoantistoffer
(anti-CCP)
(Kat. nr. CCPoint 20)
Til bruk av helsepersonell

BRUKSOMRÅDE

Euro-Diagnostica CCPoint®-testen kan avleses visuelt og er en kvalitativ hurtigtest av lateral flow for deteksjon av IgG-antistoffer til CCP (Cyclic Citrullinated Peptides) i humant kapillært fullblod, plasma eller serum. Resultatet av testen skal brukes som en hjelp ved diagnostiseringen av rheumatoid artritt (RA), sammen med andre laboratoriefunn og kliniske funn. Til bruk av helsepersonell. For bruk ved in vitro diagnostiske formål.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Rheumatoid artritt (RA) er en av de vanligste systemiske autoimmune sykdommene. Etiologien til sykdommen, som rammer opp til 1-2 % av verdens befolkning, er ukjent. Diagnosen på RA avhenger primært av kliniske symptomer på sykdommen. En rutinemessig brukt serologisk test er bestemmelse av rheumatoide faktorer (RF) i serum. RF er antistoffer styrt mot Fc-delen av antistoffer av den humane IgG-klassen. Disse antistoffene finnes imidlertid i relativt høy prosentdel ved andre autoimmune sykdommer, infeksjoner og hos opp til 15 % av friske personer.

Antistoffer av en mer spesifikk art er også funnet i sera fra RA-pasienter (se (1) for en oversikt). Et antall syklisk syntetiske peptider er blitt beskrevet spesifikt avdekket av autoantistoffer i sera fra RA-pasienter (2). Disse peptidene er blitt brukt i en EIA for deteksjon av RA-spesifikke autoantistoffer (2). Kliniske evalueringsstudier viste at EIA var positiv i et signifikant antall veldefinerte sera fra RA-pasienter med høy spesifisitet mot sykdomskontrollpersoner (2-7). En diagnostisk og prognostisk verdi for måling av antistoffer som er reaktive overfor Cyclic Citrullinated Peptides (anti-CCP) ble funnet i forbindelse med leddangrep og radiologisk skade i tidlig fase av RA (6, 8-13). Anti-CCP-antistoffer kan detekteres mange år før det utvikles kliniske symptomer (13). CCPoint®-testen fra Euro-Diagnostica er en rask lateral flow immunoassay for deteksjon av anti-CCP-antistoffer i humant kapillært fullblod. Testen bygger på høyrensede syntetiske peptider som inneholder citrullinkonsentrasjoner og er et verdifullt tilskudd ved diagnostiseringen av RA. Assayet har samme sensitivitet og spesifisitet som Immunoscan RA anti-CCP ELISA (Euro-Diagnostica).

PRINSIPPET FOR CCPoint®-TESTEN

CCPoint®-testen er et kolloidalt gull-basert lateral flow immunoassay. Reaktive sykliske citrullinerte peptider er immobilisert som en atskilt linje på en porøs membran i testsonen. Deteksjonsreagensen, som består av kolloidale gullpartikler konjugert til anti-human IgG, avsettes på konjugatputen i enheten.

I assayprosedyren blir en blodprøve avsatt i prøveåpningen. En lodcellesepareringsmembran overfører prøvewæsken på den porøse membranen. Etter en kort inkubasjon blir flytende buffer tilført bufferåpningen. Denne bufferen mobiliserer de kolloidale gullpartiklene fra konjugatputen. Gullpartiklene og prøven forflytter seg ved kapillær kraft over membranen.

Hvis prøven inneholder anti-CCP-antistoffer, vil de bindes til peptidantigenene, og en rød strek vises i testsonen (merket T). Hvis prøven ikke inneholder noen anti-CCP-antistoffer, vises ingen strek. Med alle prøver skal det vises en rød kontrollstrek i kontrollsonen (merket C). Kontrollen sikrer at det kolloidale gullbelegget fremdeles er aktivt.

MATERIALER OG REAGENSER SOM FØLGER MED

Innholdet i CCPoint®-testsett:

- 20 folieposer med CCPoint®-testenhet
- 22 engangspipetter (20 µL)
- 2 dråpeflasker, hver med 3 mL flytende buffer.
- 1 CCPoint® bruksanvisning
- 1 hurtigveiledning

NØDVENDIGE MATERIALER/UTSTYR SOM IKKE FØLGER MED

- Fingerlansett
- Pre-injeksjonsvattpinne
- Selvheftende forbindinger
- Beholdere for biologisk farlig avfall
- Engangshansker
- Tidsmåler
- Eventuelt presisjonspipetter for dosering av 10 µL serum eller plasma

HÅNDBTERING OG OPPBEVARING

- Settet oppbevares tørt ved 2-25° C.
- Ved oppbevaring i kjøleskap må testenheten og bufferflasken oppnå romtemperatur (18-25° C) før de åpnes og brukes til testing.
- Oppbevar testenheten i folieposen til den skal brukes.
- Reagenser som er gått ut på dato må ikke brukes.
- Forskjellige lot-numre må ikke blandes.
- Settet må ikke fryses.
- Innholdet i settet er stabilt til utløpsdatoen oppgitt på den ytre emballasjen.

FORSIKTIGHETSREGLER

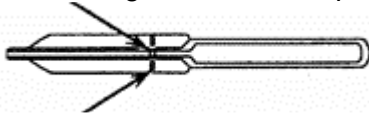
- Kun for bruk ved in vitro diagnostiske formål.
- Optimale resultater vil fremkomme ved nøye overholdelse av denne protokollen.
- Ikke bruk komponenter etter utløpsdatoen, og ikke bland komponenter fra ulike lot-numre.
- Testenheten kan kun brukes én gang.
- Ikke bruk en CCPoint®-test hvis folieposen er skadet.
- Ved utføring av testen må det brukes engangshansker gjennom hele testprosedyren.
- Følg alminnelige forsiktighetsregler og andre aktuelle laboratorie- og sikkerhetsrutiner ved innsamling, håndtering og avhending av pasientblod. Alle blodprøver og brukt materiale (inkludert engangshansker) skal anses som farlig avfall og håndteres på samme måte som smittsomme stoffer. Korrekt håndtering og avhendingsmetoder må fastsettes i overensstemmelse med offentlige forskrifter.

PRØVETAKING

Assayet anbefales til humant kapillært fullblod tatt gjennom fingerstikk. Prøver av EDTA-plasma, heparinplasma, citratplasma eller serum kan også brukes.

Fryste blodprøver, betydelig hemolyserte eller uklare plasma-/serumprøver må ikke brukes. Ved testing av kapillært blod må prøveåpningen fylles ved hjelp av engangspipetten (20 µL) som følger med settet. Et luftehull i dette røret er strategisk plassert på sideveggen til pipetten for å besørge lufting og prøvevolumkontroll.

Luftehull regulerer volumet på prøveflow



Fyllinje indikerer innsamlet prøve totalt

Kapillært blod må testes rett etter at prøven er tatt.

Ved testing av plasma eller serum fylles prøveåpningen ved pipettering av 10 µL plasma eller serum.

PRØVEPROSEDYRE

1. Forberedelse

Samle nødvendige materialer: testenhet i foliepose, buffer, tidtaker, hansker, desinfeksjonskompress og selvheftende forbindinger.

For fingerstikk: blodlansett (sikkerhetstype) og engangspipette

For serum- eller plasmaprøver følges standard laboratorieprosedyrer.

2. Testenhet

Når CCPoint®-testen har vært oppbevart i kjøleskap, må den oppnå romtemperatur (18-25° C) før bruk.

IKKE åpne folieposen før alt er klart til å utføre testen!

Åpne folieposen og plasser testenheten vannrett på et rent og plant underlag.

IKKE åpne klaffdelen av enheten før testen skal utføres!

3. Klargjøre prøven

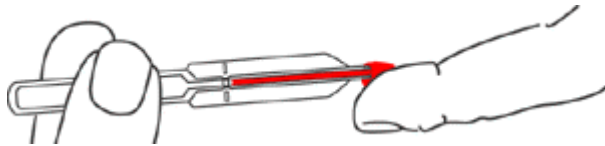
Kapillært fullblod med fingerstikk:

Rens fingertuppen med en desinfeksjonskompress.

Bruk en blodlansett (sikkerhetstype) til å utføre fingerstikket. Følg bruksanvisningen som følger med den enkelte lansetten.

Når fingerstikket er utført, masseres fingeren forsiktig mot fingertuppen for å få fram en dråpe blod på punkturstedet.

Hold engangspipetten vannrett og før tuppen av pipetten bort til blodprøven. Kapillær virkning trekker automatisk inn prøven til fyllinjen og stopper.



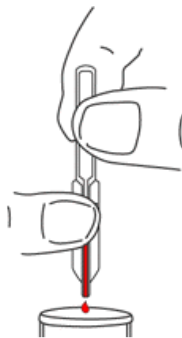
Forsiktig: Fylling skjer automatisk; pipetten må aldri klemmes under prøvetaking!
For å unngå kryssforurensing, må det anvendes en ny engangspipette for hver prøve.

4. Påføre prøven

Den kapillære blodprøven (20 μ L) eller serum/plasma (10 μ L) påføres blodsepareringsmembranen i prøveåpningen.

For å drive ut den kapillære blodprøven, rett inn tuppen av engangspipetten mot prøveåpningen og klem på kolben. Hvis prøven ikke kommer ut, skyv en finger over luftehullet og klem på kolben.

Engangspipetten må ikke komme i kontakt med membranen.



Etter påføring av prøven, **vent i 30 sekunder.**

Løft klaffdelen og påfør straks 5 dråper flytende buffer i bufferåpningen.

For å unngå forurensing, unngå at tuppen av hetteglasset for flytende buffer berører enheten.

LOKKET MÅ IKKE LUKKES MENS TESTEN KJØRES!





La lokket stå åpent, og la testen kjøres i 10 minutter.

5. Tolkning av testresultatet

Les av resultatet etter 10 minutter i godt lys.

For å sikre assayets gyldighet har enheten en prosesskontrollstrek merket "C". Hvis kontrollstreken ikke vises i dette området når assayet er fullført, er testresultatet ugyldig og prøven må testes på nytt med en ny testenhet.

Når prøven er positiv for anti-CCP-antistoffer, vil en ekstra strek (teststreken, merket "T") være synlig.

T C		POSITIV: 2 streker vises; en på kontrollstreken (C) og en på teststreken (T)
T C		NEGATIV: 1 strek vises på kontrollstreken (C)
T C		UGYLDIG: 1 strek vises, kun på teststreken (T)
T C		UGYLDIG: Ingen streker vises

Positiv (to streker)

Når både teststreken (T) og kontrollstreken (C) vises i resultatvinduet, uansett relativ eller absolutt intensitet, skal testen tolkes som positiv. Testen skal tolkes som positiv selv om teststreken har lysere farge enn kontrollstreken, teststreken er ufullstendig eller er ujevnt farget. Et positivt resultat angir at det er anti-CCP-antistoffer i blodprøven.

Negativ (en strek)

Når bare kontrollstreken (C) vises i resultatvinduet, betyr det at testen er negativ. Et negativt resultat skal tolkes som trolig negativt med hensyn til tilstedeværelsen av anti-CCP-antistoffer i blodprøven.

Ugyldig

En test med en ikke-reaktiv kontrollstrek (C), uansett eventuelt annen reaktivitet, anses å være ugyldig.

Blodprøven må testes på nytt i en annen testenhet.

PROSEDYREBEGRENSNINGER

Personer som utfører denne testen må først ha lest og forstått dette pakningsvedlegget. Det er viktig at protokollen følges nøye for å få pålitelige testresultater.

CCPoint®-testen er utformet for å detektere anti-CCP-antistoffer i ufortynnet humant kapillært blod, plasma eller serum. Det er usikkert om fortynnede løsninger av disse prøvene og/eller bruk av andre kroppsvæsker vil gi korrekte resultater.

Et negativt testresultat utelukker ikke muligheten for at pasienten er i en fase med utvikling av RA.

Et positivt resultat må brukes sammen med klinisk evaluering og andre diagnostiske prosedyrer. Verdiene som oppnås fra dette assayet er kun ment som støtte i diagnostiseringen. Den enkelte lege må tolke resultatet i lys av pasientens sykehistorie, fysiske funn og andre diagnoseprosedyrer.

Forhøyet mengde anti-CCP-antistoffer kan finnes hos enkeltpersoner som ikke har symptomer på klinisk sykdom. I tillegg kan noen personer med RA ha udetekterbare antistoffer.

FUNKSJONSDATA

Tabell 1. Prosentvis samsvar for CCPoint-assay sammenlignet med alternativ anti-CCP ELISA. I alt 1052 fryste retrospektive sera ble undersøkt, hvorav 596 var fra RA-pasienter og 456 prøver var fra tilsynelatende friske blodgivere. Tabellen nedenfor oppsummerer resultatet.

	Alternativ ELISA			
		Positive	Negative	Totalt
CCPoint-assay	Positiv	439	3	442
	Negativ	1	609	610
	Totalt	440	612	1052

Positivt prosentvis samsvar:	439/440	= 99,8 %	95 % CI = 98,7 - 100 %
Negativt prosentvis samsvar:	609/612	= 99,5 %	95 % CI = 98,6 - 99,9 %
Samlet prosentvis samsvar:	1048/1052	= 99,6 %	95 % CI = 99,0 - 99,9 %

Tabell 2. Klinisk sensitivitet og spesifisitet. I alt 1815 fryste retrospektive sera med klinisk karakterisering ble testet. Tabellen nedenfor oppsummerer resultatet.

	n	negative	positive
Friske kontrollpersoner (blodgivere)	456	452	4
RA	596	158	438
Infeksjonssykdommer	108	105	3
Inflammatoriske sykdommer (ikke-RA)	576	572	4
Rutineprøver (ikke-RA)	79	77	2
TOTALT	1815	1364	451

(Data på fil)

Klinisk sensitivitet

RA 438/596 = 73,5 % 95 % CI = 69,9 - 77,0 %

Klinisk spesifisitet

Friske kontrollpersoner (blodgivere)	452/456	= 99,1 %	95 % CI = 97,8 - 99,8 %
Infeksjonssykdommer	105/108	= 97,2 %	95 % CI = 92,1 - 99,4 %
Inflammatoriske sykdommer (ikke-RA)	572/576	= 99,3 %	95 % CI = 98,2 - 99,8 %
Rutineprøver (ikke-RA)	77/79	= 97,4 %	95 % CI = 91,2 - 99,7 %
Kombinerte ikke-RA-grupper	1206/1219	= 98,9 %	95 % CI = 98,2 - 99,4 %

95 %-konfidensintervallet (CI) ble beregnet med nøyaktig metodikk.

Nøyaktighet

Inter-assay-ytelsen til CCPoint-assayet ble evaluert ved hjelp av negative, lav-positive og høy-positive prøver for antistoffer mot anti-CCP. Seks forskjellige prøver testet åtte ganger hver, av tre forskjellige personer. Alle resultater som fremkom, var 100 % samsvarende med forventede resultater.

Batch-til-batch-ytelsen til CCPoint-assayet ble evaluert ved hjelp av negative, lav-positive og høy-positive prøver for antistoffer mot anti-CCP. Seks forskjellige prøver testet åtte ganger hver, med tre forskjellige batcher. Alle resultater som fremkom, var 100 % samsvarende med forventede resultater.

Interferensstudie

Tre lav-positive prøver ble kombinert med følgende konsentrasjoner i serumprøver; bilirubin F på 18,8 mg/dl, Bilirubin C på 20 mg/dl, hemoglobin på 453 mg/dl, kylus på 23.6 U/dl og rheumatoid faktor på 55 IU/mL. Dataene indikerer at de testede konsentrasjonene ikke påvirker nøyaktigheten til testen.

For å vurdere mulig kryssforurensing av CCP IgG-antigen med andre autoantistoffer, ble i alt 498 prøver av ulik etiologi testet. Prøver fra pasienter diagnostisert med Crohns sykdom, colitis ulcerosa, SLE, Sjögrens syndrom, osteoartritt, sklerodermi, multippel sklerose, MCTD, inflammatorisk tarmsykdom, polymyositt/dermatomyositt, ikke-RA autoimmune pasienter og prøver som reagerer med MPO-ANCA, PR3-ANCA og ds-DNA. Data indikerer at de testede autoantistoffene ikke viser signifikant kryssreaktivitet.

CCPoint[®]

Ett visuellt avläst, kvalitativt, snabbt test med lateralt flöde
för detektion av autoantikroppar som är specifika för reumatoid artrit
(anti-CCP)
(Kat. nr: CCPoint 20)
För användning av sjukvårdspersonal

AVSEDD ANVÄNDNING

Euro-Diagnostica CCPoint® test är ett visuellt avläst, kvalitativt, snabbt test med lateralt flöde för detektion av IgG-antikroppar mot cykliska citrullinerade peptider (CCP) i humant kapillärt helblod, plasma eller serum. Resultaten från testet ska användas som ett hjälpmedel vid diagnosen av reumatoid artrit (RA) i kombination med andra laboratorieresultat och kliniska fynd. För användning av sjukvårdspersonal. För *in vitro*-diagnostik.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Reumatoid artrit (RA) är en av de vanligaste systemiska autoimmuna sjukdomarna. Etiologin bakom sjukdomen, som drabbar 1–2 % av världens befolkning, är inte känd. Diagnosen RA beror främst på sjukdomens kliniska manifestation. Ett serologiskt test som används rutinemässigt är bestämningen av reumatoida faktorer (RF) i serum. RF är antikroppar riktade mot Fc-delen på antikroppar i den humana IgG-klassen. Dessa antikroppar förekommer emellertid också i relativt höga procenttal vid andra autoimmuna sjukdomar, infektioner och hos upp till 15 % av friska individer.

Antikroppar av mer specifik natur har också hittats i sera från RA-patienter (se (1) för en översikt). Man har beskrivit ett antal cykliska syntetiska peptider som autoantikroppar i sera från RA-patienter specifikt känner igen (2). Dessa peptider har använts i en EIA för detektion av RA-specifika autoantikroppar (2). Kliniska utvärderingsstudier visade att EIA var positiv i ett signifikant antal väldefinierade RA-patienters sera med hög specificitet mot sjukdomskontroller (2–7). Man fann ett diagnostiskt och prognostiskt värde i att mäta antikroppar som är reaktiva mot cykliska citrullinerade peptider (anti-CCP) i samband med ledengagemang och radiologiska förändringar vid tidig RA (6, 8–13). Antikroppar mot CCP kan detekteras flera år innan kliniska symtom utvecklas (13). CCPoint®-testet, som Euro-Diagnostica erbjuder, är en snabb immunanalys med lateralt flöde för detektion av antikroppar mot CCP i humant kapillärt helblod. Testet baseras på höggradigt renade syntetiska peptider som innehåller citrullinrester och är ett värdefullt tillskott till diagnosen av RA. Känsligheten och specificiteten hos analysen är samma som Immunoscan RA anti-CCP ELISA (Euro-Diagnostica).

PRINCIPEN FÖR CCPoint®-TESTET

CCPoint®-testet är en immunanalys med lateralt flöde, baserad på kolloidalt guld. Reaktiva cykliska citrullinerade peptider immobiliseras som en separat linje på ett poröst membran som finns i testområdet.

Detektionsreagenset, som består av kolloidala guldpartiklar konjugerade med anti-humant IgG, avsätts på konjugatplattan inuti enheten.

Vid analysproceduren tillsätts ett blodprov i provporten. Ett membran för separation av blodkroppar överför provvätskan till det porösa membranet. Efter en kort inkubering tillsätts buffert i buffertporten. Denna buffert får de kolloidala guldpartiklarna att röra sig från konjugatplattan. Guldpartiklarna och provet rör sig med kapillärkraft över membranet.

Om provet innehåller antikroppar mot CCP kommer de att binda till peptidantigenerna och en röd linje uppträder i testområdet (märkt med T). Om provet inte innehåller några antikroppar mot CCP kommer inte någon linje att uppträda. Alla prover ska ge en röd kontrollinje i kontrollområdet (märkt med C). Kontrollen säkerställer att det belagda kolloidala gullet fortfarande är aktivt.

MATERIAL OCH REAGENSER SOM MEDFÖLJER

Innehåll i CCPoint® testkit:

- 20 foliepåsar innehållande CCPoint® testenhet
- 22 engångspipetter (20 µL)
- 2 droppflaskor, vardera innehållande 3 mL buffert
- 1 bruksanvisning för CCPoint®
- 1 snabbguide

MATERIAL/UTRUSTNING SOM BEHÖVS MEN INTE MEDFÖLJER

- Fingerlancett
- Injektionstork
- Självhäftande förband
- Behållare för biologiskt riskavfall att kasta kontaminerat material i
- Engångshandskar
- Tidur
- När det är tillämpligt, precisionspipetter för att fördela 10 µL serum eller plasma

HANTERING OCH FÖRVARING

- Förvara kitet vid 2–25 °C på en torr plats.
- Om de förvaras i kylskåp, låt testenheten och buffertflaskan anta rumstemperatur (18–25° C) innan den öppnas och testet utförs.
- Förvara testenheten i foliepåsen tills den ska användas.
- Använd inte reagenser efter utgångsdatum.
- Blanda inte olika satsnummer.
- Frys inte kitet.
- Kitets innehåll är stabilt fram till det utgångsdatum som anges på ytterkartongen.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Endast för *in vitro*-diagnostik.
- Optimala resultat erhålles genom att strikt följa detta protokoll.
- Använd inte komponenterna efter utgångsdatum och blanda inte komponenter från olika satser.
- Varje testenhet kan endast användas en gång.
- Använd inte CCPoint®-testet om foliepåsen är skadad.
- När du utför testet, använd engångshandskar under hela testproceduren.
- Iaktta allmänna försiktighetsåtgärder och andra lämpliga laboratorie- och säkerhetsrutiner vid provtagning, hantering och avfallshantering av patientblod. Alla blodprover och använt material (inklusive engångshandskar) ska anses vara potentiellt riskavfall och hanteras på samma sätt som smittsamt material. Lämpliga metoder för hantering och avfallshantering ska upprättas i enlighet med lokala och statliga föreskrifter.

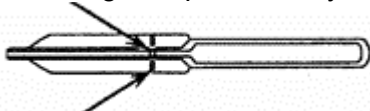
PROVTAGNING

Analysen rekommenderas för humant kapillärt helblod från fingerstick. EDTA-plasma, heparinplasma, citratplasma eller serumprover kan också användas.

Använd inte frysta prover med helblod, kraftigt hemolyserade eller grumliga plasma-/serumprover.

När kapillärblood testas, ska provporten laddas med hjälp av engångspipetten (20 µL) som medföljer kitet. Ett lufthål i detta rör är strategiskt placerat på pipettens sidovägg för att ge automatisk luftning och kontroll av provvolym.

Lufthål reglerar provets volym



Fyllnadslinje indikerar total provvolym

Kapillärbloodet ska testas omedelbart efter att provet har tagits.

När plasma eller serum testas, ska provporten laddas genom att pipettera 10 µL plasma eller serum.

ANALYSMETOD

1. Förberedelser

Samla ihop det material som behövs: testenhet i foliepåse, buffert, tidur, handskar, injektionstork och självhäftande förband.

För fingerstick: blodlancett (säkerhetslancett) och engångspipett

För serum- eller plasmaprover följs standardlaboratoriemetoder.

2. Testenhet

Om CCPoint®-testet har förvarats i kylskåp, låt testet anta rumstemperatur (18–25 °C) före användning.

Öppna **INTE** foliepåsen förrän du är redo att utföra testet!

Öppna foliepåsen och placera testenheten horisontellt på en ren och plan yta.

Öppna **INTE** enhetens uppfällbara del innan testet ska köras!

3. Förberedelse av prov

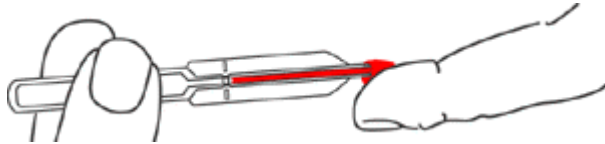
Kapillärt helblod från fingerstick:

Rengör fingertoppen med en injektionstork.

Använd en blodlancett (säkerhetslancett) för att göra ett fingerstick. För att göra detta, följ bruksanvisningen som medföljer den speciella lancetten.

Efter att fingersticket har gjorts, masseras fingret i riktning mot fingertoppen för att få fram en bloddroppe på punktionsstället.

Håll engångspipetten horisontellt och vidrör bloddroppen med pipettspetsen. Kapillärkraften kommer automatiskt att dra upp provet till fyllnadslinjen och stanna.



Varning: Pipetten fylls automatiskt, krama inte pipetten vid provtagning!

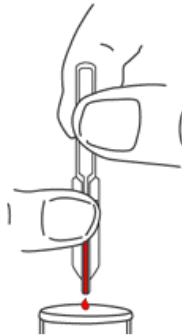
För att undvika korskontamination, använd en ny engångspipett för varje prov.

4. Tillsättning av prov

Kapillärblodprov (20 µL) eller serum/plasma (10 µL) ska appliceras på blodseparationsmembranet i provporten.

För att trycka ut kapillärblodprovet, rikta engångspipettens spets rakt mot provporten och kläm på pipettblåsan. Om provet inte trycks ut, dra med ett finger över ventilationshålet och krama pipetten.

Låt inte engångspipetten komma i kontakt med membranet.



När provet har applicerats, **vänta i 30 sekunder.**

Lyft upp den uppfällbara delen och tillsätt omedelbart 5 droppar buffert i buffertporten.

För att undvika kontamination, låt inte spetsen på flaskan med buffert vidröra enheten.

STÄNG INTE LOCKET NÄR TESTET KÖRS!


Medan locket hålls öppet, låt testet köras i 10 minuter.


5. Tolkning av testresultat


Avläs resultaten efter 10 minuter i bra belysning.


För att säkerställa analysens validitet, innehåller enheten en kontrollinje som är märkt med "C". Om kontrollinjen inte framträder i detta område när analysen är färdig, är testresultatet ogiltigt och provet bör testas på nytt med en ny testenhet.

Om provet är positivt för antikroppar mot CCP, kommer en andra linje (testlinjen, märkt med "T") att bli synlig.


 POSITIVT: 2 linjer syns; en vid kontrollinjen (C) och en vid testlinjen (T)


 NEGATIVT: 1 linje syns vid kontrollinjen (C)


 OGILTIGT: 1 linje syns vid testlinjen (T) enbart


 OGILTIGT: Inga linjer syns

Positivt (två linjer)

Om både testlinjen (T) och kontrollinjen (C) visas i resultatfönstret, oberoende av relativ eller absolut intensitet, ska det tolkas som positivt. Testet ska tolkas som positivt även om testlinjen har ljusare färg än kontrollinjen, inte sträcker sig över hela testremsans bredd eller är ojämn i färgen. Ett positivt resultat indikerar förekomst av antikroppar mot CCP i blodprovet.

Negativt (en linje)

Om endast kontrollinjen (C) syns i resultatfönstret, indikerar det att testet är negativt. Ett negativt resultat ska tolkas som sannolikt negativt med avseende på förekomst av antikroppar mot CCP i blodprovet.

Ogiltigt

Ett test med en icke-reaktiv kontrollinje (C), oberoende av eventuell annan reaktivitet, anses ogiltigt.

Blodprovet bör testas på nytt med en annan testenhet.

METODBEGRÄNSNINGAR

Personer som utför detta test bör göra det först efter att noggrant ha läst och förstått denna bipacksedel. Det är nödvändigt att strikt följa protokollet för att få tillförlitliga testresultat.

CCPoint®-testet är utformat för att detektera antikroppar mot CCP i utspätt humant kapillärblod, plasma eller serum. Utspädda lösningar av dessa prover och/eller användning av andra kroppsvätskor kanske inte ger korrekta resultat.

Ett negativt testresultat utesluter inte möjligheten för att patienten befinner sig i en fas då RA utvecklas.

Ett positivt resultat måste användas tillsammans med klinisk utvärdering och andra diagnostiska metoder. De värden som erhålles med denna analys är endast avsedda att vara en hjälp vid diagnos. Varje läkare måste tolka resultaten tillsammans med patientens anamnes, fysiska fynd och andra diagnostiska metoder.

Förhöjda nivåer av antikroppar mot CCP kan observeras hos individer utan tecken på klinisk sjukdom. Dessutom kan vissa individer med RA ha antikroppar som inte kan detekteras.

PRESTANDA

Tabell 1. Procentuell överensstämmelse hos CCPoint-analysen jämfört med alternativa anti-CCP-ELISA. Totalt 1 052 frysta retrospektiva sera analyserades, varav 596 kom från RA-patienter och 456 prover kom från synbart friska blodgivare. Följande tabell sammanfattar resultaten.

	Alternativ ELISA			
		Positiva	Negativa	Totalt
CCPoint analys	Positiva	439	3	442
	Negativa	1	609	610
	Totalt	440	612	1 052

Positiv procentuell överensstämmelse: $439/440 = 99,8 \%$ 95 % KI = 98,7–100 %
 Negativ procentuell överensstämmelse: $609/612 = 99,5 \%$ 95 % KI = 98,6–99,9 %
 Total procentuell överensstämmelse: $1\ 048/1\ 052 = 99,6 \%$ 95 % KI = 99,0–99,9 %

Tabell 2. Klinisk känslighet och specificitet. Totalt 1 815 frysta retrospektiva sera med klinisk karakterisering analyserades. Följande tabell sammanfattar resultaten.

	% (n)	negativa	positiva
Friska kontroller (blodgivare)	456	452	4
RA	596	158	438
Infektionssjukdomar	108	105	3
Inflammatoriska sjukdomar (ej RA)	576	572	4
Rutinprover (ej RA)	79	77	2
TOTALT	1 815	1 364	451

(Arkiverade data)

Klinisk känslighet

RA 438/596 = 73,5 % 95 % KI = 69,9–77,0 %

Klinisk specificitet

Friska kontroller (blodgivare) 452/456 = 99,1 % 95 % KI = 97,8–99,8 %

Infektionssjukdomar 105/108 = 97,2 % 95 % KI = 92,1–99,4 %

Inflammatoriska sjukdomar (ej RA) 572/576 = 99,3 % 95 % KI = 98,2–99,8 %

Rutinprover (ej RA) 77/79 = 97,4 % 95 % KI = 91,2–99,7 %

Kombinerade icke-RA-grupper 1 206/1 219 = 98,9 % 95 % KI = 98,2–99,4 %

95 % konfidensintervall (KI) beräknades med hjälp av den exakta metoden.

Noggrannhet

Skillnad i prestanda **mellan olika analyser** med CCPoint-analysen utvärderades med hjälp av prover som var negativa, svagt positiva och starkt positiva för antikroppar mot CCP. Sex olika prover testades åtta gånger var, av tre olika personer. Alla resultat överensstämde till 100 % med de förväntade resultaten.

Skillnad i prestanda **mellan olika satser** av CCPoint-analysen utvärderades med hjälp av prover som var negativa, svagt positiva och starkt positiva för antikroppar mot CCP. Sex olika prover testades åtta gånger var, med tre olika batcher. Alla resultat överensstämde till 100 % med de förväntade resultaten.

Interferensstudie

Tre svagt positiva prover spetsades till följande koncentrationer i serumprover: bilirubin F 18,8 mg/dL, bilirubin C 20 mg/dL, hemoglobin 453 mg/dL, kylus 23,6 E/dL och reumatoid faktor 55 IE/mL. Data indikerar att de analyserade koncentrationerna inte påverkar testets exakthet.









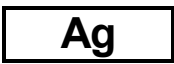



För att utvärdera korsreaktiviteten hos CCP IgG-antigen med andra autoantikroppar, analyserades totalt 498 prover av olika etiologi. Prover från patienter som diagnostiserats med Crohns sjukdom, ulcerös kolit, SLE, Sjögrens syndrom, artros, sklerodermi, multipel skleros, MCTD, inflammatorisk tarmsjukdom, polymyosit/dermatomyosit, autoimmuna patienter som inte har RA och prover som reagerar med MPO-ANCA, PR3-ANCA och ds-DNA. Data indikerar att de analyserade autoantikropparna inte visar någon signifikant korsreaktivitet.

**LITERATURE / BIBLIOGRAPHIE / REFERENCIAS / LITERATUR /
BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA / HENVISNINGER / LITTERATUR /
LITTERATUR**

1. Van Boekel, M., Vossenaar, E., Van den Hoogen, F., Van Venrooij, W. Autoantibody systems in Rheumatoid Arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res.* 4, 87-93 (2002).
2. Schellekens, G., De Jong, B., Van den Hoogen, F., Van de Putte, L., Van Venrooij, W. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by Rheumatoid Arthritis-specific autoantibodies. *J. Clin. Invest.* 101, 273-281 (1998).
3. Van Jaarsveld, C., Ter Borg, E., Jacobs, J., Schellekens, G., Gmelig-Meyling, F., Van Booma-Frankfort, C., De Jong, B., Van Venrooij, W.J., Bijlsma, J. The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early Rheumatoid Arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 17, 689-697 (1999).
4. Schellekens, G., Visser, H., De Jong, B., Van den Hoogen, F., Hazes, J., Breedveld, F., Van Venrooij, W. The diagnostic properties of Rheumatoid Arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* 43, 155-163 (2000).
5. Bizzaro, N., Mazzanti, G., Tonutti, E., Villalta, D., Tozzoli, R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for Rheumatoid Arthritis. *Clinical Chemistry* 47, 1089-1093 (2001).
6. Visser, H., Le Cessie, S., Vos, K., Breedveld, F., Hazes, J. How to diagnose Rheumatoid Arthritis early? A prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.* 46, 357-365 (2002).
7. Van Venrooij, W., Hazes, J., Visser, H. Anti-citrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early Rheumatoid Arthritis. *Neth. J. Med.* 60, 383-388 (2002).
8. Van Venrooij, W.J., Zendma, A.J.W., Pruijn, G.J.M. Autoantibodies to citrullinated antigens in (early) rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Rev.* 6, 37-41 (2006).
9. Meyer, O., Labarre, C., Dougados, M., Goupille, Ph., Cantagrel, A., Dubois, A., Nicaise-Roland, P., Sibilia, J., Combe, B. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early Rheumatoid Arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann. Rheum. Dis* 62, 120-126 (2003).
10. Rantapää-Dahlqvist, S., de Jong, B., Berglin, E., Hallmans, G., Wadell, G., Stenlund, H., Sundin, U., Van Venrooij, W. Antibodies against citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 48, 2741-2749 (2003).
11. Forslind, K., Ahlmén, M., Eberhardt, K., Hafström, I., Svensson, B. Prediction of radiological outcome in early RA in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann. Rheum. Dis.* 63, 1090-1095 (2004).
12. Kastbom, A., Strandberg, G., Lindroos, A., Skogh, T., Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann. Rheum. Dis.* 63, 1085-1089 (2004).
13. van Gaalen, F., Linn-Rasker, S., Van Venrooij, W., de Jong, B., Breedveld, F., Verweij, C., Toes, R., Huizinga, T. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to Rheumatoid Arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum.* 50, 709-715 (2004).

**APPENDIX / ANNEXE / APÉNDICE / ANHANG / APPENDICE / APÊNDICE /
BILAG / TILLEGG / APPENDIX**

Symbols used on labels / Symboles utilisés sur les étiquettes / Simbolos usados en las etiquetas / Symbole auf den Etiketten / Simboli utilizzati sulle etichette / Simbolos utilizados nos rótulos / Symboler anvendt på etiketter / Symboler som brukes på etiketter / Symboler på etiketterna

	Lot number. Numéro de lot. Número de lote. Chargen-Nummer. Lotto No. Número do lote. Lotnummer. Lot-nummer. Satsnummer.
	Catalogue number. Numéro de catalogue. Número de catálogo. Katalog-Nr. Codice No. Número de catálogo. Bestillingsnummer. Katalognummer. Katalognummer.
	Use by. À utiliser avant. Usar antes de. Verfallsdatum. Utilizzare entro. Utilizar até. Skal anvendes inden. Brukes innen. Utgångsdatum.
	Temperature limitation. Conserver à. Limites de temperatura. Lagertemperatur. Limiti di temperatura. Limites de temperatura. Opbevares ved. Temperaturbegrensning. Förvaringstemperatur.
	Read instructions for use. Lire le manuel d'utilisation. Leer instrucciones de uso. Siehe Arbeitsanleitung vor Gebrauch. Leggere le istruzioni per l'uso. Ler as instruções de utilização. Læs brugsvejledning. Les bruksanvisningen. Läs instruktionsmanualen.
	In vitro diagnostic use. Pour le diagnostic in vitro uniquement. Para uso en diagnóstico in vitro. Nur zur in-vitro Diagnostik bestimmt. Uso diagnóstico in vitro. Utilização em diagnóstico <i>in vitro</i> . In vitro diagnostisk brug. Til In vitro diagnostisk bruk. In vitro diagnostika.
	Manufacturer. Fabricant. Fabricante. Hersteller. Produttore. Fabricante. Producent. Tilvirker. Tillverkare.
	Number of tests. Nombre de tests. Número de pruebas. Anzahl der Tests. Numero di test. Número de testes. Antal tester. Antall tester. Siffror i symbolen anger antalet test.
	Antigen (test device). Antigène (dispositif de test). Antígeno (dispositivo de prueba). Antigen (Testvorrichtung). Antigene (dispositivo di test). Antígeno (dispositivo de teste). Antigen (testanordning). Antigen (testenhet). Antigen (testenhet)
	Buffer. Tampon. Tampón. Puffer. Tampone. Tampão. Buffer. Buffer. Buffert.
	Disposable pipettes 22 x 20 µL. 22 pipettes jetables de 20 µL. Pipetas desechables, 22 x 20 µl. Einmalpipetten 22 x 20 µl. Pipette monouso 22 x 20 µL. 22 pipetas descartáveis de 20 µl. Engangspipetter 22 x 20 µl. Engangspipetter 22 x 20 µl. Engångspipetter 22 x 20 µL.
	Do not reuse. Ne pas réutiliser. No reutilizar. Nicht zur Wiederverwendung. Non riutilizzare. Não reutilizar. Må ikke genbruges. Ikke gjenbruk. Återanvänd ej.

EURO-DIAGNOSTICA AB

Lundavägen 151, SE-212 24 Malmö, Sweden

Phone: +46 40 53 76 00, Fax: +46 40 43 22 88

E-mail: info@eurodiagnostica.com

www.eurodiagnostica.com