

FLUORO-ENZYMIMMUNOASSAY VOOR ANTISTOFFEN TEGEN CYCLISCH GECITRULLINEERD PEPTIDE (CCP)

VOOR IN VITRO DIAGNOSTISCH GEBRUIK

GEBRUIKSAANWIJZING

INHOUD

EliA maakt gebruik van een modulair reagenssysteem. Alle informatie die nodig is om het gebruik van de EliA-tests te begrijpen, kan worden gevonden in deze analyt-specifieke gebruiksaanwijzing en de gebruiksaanwijzing van de bijbehorende EliA Control.

BEOOGD GEBRUIK

EliA CCP is bedoeld voor de in vitro kwantitatieve meting van IgG-antistoffen tegen CCP in humaan serum en plasma. De aanwezigheid van anti-CCP-antistoffen kan in combinatie met klinische bevindingen en andere laboratoriumtests als hulpmiddel in de klinische diagnose van reumatoïde artritis (RA) worden gebruikt. EliA CCP wordt gebruikt met de EliA IgG-methode op het instrument Phadia 250.

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE TEST

Reumatoïde artritis (RA) is een van de meest voorkomende systemische auto-immuun-ziekten (prevalentie 1 - 2%). Het wordt gekenmerkt door een chronische ontsteking van de gewrichten en kan leiden tot progressieve erosie en kraakbeenafbraak. Tot voor kort werd de vroege diagnose van RA voornamelijk op klinische manifestaties en op reumafactoren (RF) als serologische marker gebaseerd. Het vaststellen van RF is vrij gevoelig voor RA (50 - 90%), maar heeft slechts een beperkte specificiteit (70 - 90%).^{1,2} Patiënten met diverse andere ziekten (zoals SLE, Sjögren-syndroom, systemische sclerose, polymyositis / dermatomyositis) en sommige gezonde mensen zijn ook positief voor RF gebleken.² In 1998 zijn sterk RA-specifieke antistoffen beschreven tegen gecitrullineerde peptiden.³ Een ELISA op basis van de oorspronkelijk beschreven CCP-sequentie is niet breed op de markt gebracht. EliA CCP bevat een mengsel van synthetische peptiden geselecteerd op basis van verbeterde prestaties bij de detectie van auto-antistoffen tegen RA. In de literatuur wordt dit antigeenpreparaat doorgaans aangeduid met CCP2 of tweede generatie.⁹ Assays die dit preparaat gebruiken, laten een gevoeligheid van 68% en een specificiteit van minstens 96% zien.^{1,4} Testen op anti-CCP is daarom een hulpmiddel in de diagnose van RA. Bovendien kunnen anti-CCP-antistoffen van voorspellende waarde zijn met betrekking tot de ontwikkeling van radiografisch zichtbare schade aan gewrichten.^{5,6,7,8}

PRINCIPES VAN DE PROCEDURE

De EliA CCP Wells zijn gecoat met gecitrullineerde synthetische peptiden (tweede-generatie antigeen). Indien in het monster van de patiënt aanwezig, binden antistoffen tegen CCP aan het specifieke antigeen.

Na het wegwassen van niet-gebonden antistoffen, worden enzym-gelabelde antistoffen tegen humane IgG-antistoffen (EliA IgG Conjugate) toegevoegd om een antistof-conjugaatcomplex te vormen. Na incubatie wordt niet-gebonden conjugaat weggewassen en wordt het gebonden complex geïncubeerd met een Development Solution. Na het stoppen van de reactie wordt de fluorescentie in het reactiemengsel gemeten. Hoe hoger de responswaarde, des te specifiekere IgG aanwezig is in het monster. Voor de evaluatie van testresultaten wordt de respons op patiëntmonsters direct vergeleken met de respons op kalibrators.

REAGENTIA / MATERIAAL

EliA-reagentia zijn beschikbaar als modulaire pakketten die elk afzonderlijk worden gekocht. Alle pakketten, uitgezonderd de EliA CCP Positive Control 250 en de EliA IgG/IgM/IgA Negative Control 250, zijn nodig voor het uitvoeren van een EliA CCP-test.

De EliA CCP Wells zijn verpakt in carriers en worden bewaard in verzegelde aluminium-foliezakken die een droogmiddel bevatten.

EliA CCP-test-specifieke reagentia

EliA CCP Well (art.nr. 14-5515-01)

CCP Well; test naam: cp	Gecoat met gecitrullineerde synthetische peptiden (tweede-generatie antigeen)	4 carriers (elk 12 wells); voldoende voor 48 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum droog bewaren bij 2-8° C
----------------------------	-------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------

EliA CCP Positive Control 250 (art.nr. 83-1035-01)

Humaan serum in PBS met BSA, detergens en natriumazide (0,095%); symbool: pos.	Controle met IgG-antistoffen tegen CCP	6 flacons voor eenmalig gebruik (elk 0,3 ml); voldoende voor 2 bepalingen per flacon	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2-8° C
--------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------

EliA CCP Positive Control 250 wordt bereid van geselecteerde gepoolde humane sera.

EliA IgG/IgM/IgA Negative Control 250 (art.nr. 83-1037-01)

Humaan serum in PBS met BSA, detergens en natriumazide (0,095%); symbool: neg.	Multiparameter controle die normaal serum van gezonde donoren bevat	6 flacons voor eenmalig gebruik (elk 0,3 ml); voldoende voor 2 bepalingen per flacon	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2-8° C
--------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------

EliA IgG/IgM/IgA Negative Control 250 wordt bereid van geselecteerde gepoolde humane sera.

EliA-methodespecifieke reagentia (Phadia 250)

EliA Sample Diluent (art.nr. 83-1023-01)

Sample Diluent (geel gekleurd); PBS met BSA, detergens en natriumazide (0,095%)	6 flessen (elk 48 ml)	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2-8° C
---------------------------------------------------------------------------------	-----------------------	--------------------------------------------------------

EliA IgG Conjugate 50 (art.nr. 83-1017-01)

IgG Conjugate (blauwe kleur); β-galactosidase-anti-IgG (monoklonale muizenantistoffen) in PBS met BSA en natriumazide (0,06%); symbool: EI-G	6 wigvormige flessen (elk 5 ml), voldoende voor 6 x 50 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2-8° C NIET INVRIEZEN NIET OPNIEUW GEBRUIKEN
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------

EliA IgG Conjugate 200 (art.nr. 83-1018-01)

IgG Conjugate (blauwe kleur); β -galactosidase-anti-IgG (monoklonale muizenantistoffen) in PBS met BSA en natriumazide (0,06%); symbool: EI-G	6 wigvormige flessen (elk 19 ml), voldoende voor 6 x 200 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–8° C NIET INVRIEZEN NIET OPNIEUW GEBRUIKEN
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------

EliA IgG Calibrator Strips (art.nr. 83-1015-01)

Humaan IgG (0; 4; 10; 20; 100; 600 μ g/l); in PBS met BSA, detergens en natriumazide (0,095%)	5 strips 6 cupjes per strip voor eenmalig gebruik (elk 0,3 ml), voldoende voor één kalibratiecurve (duplo bepaling)	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–8° C
---------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------

Bereid van humaan serum.

EliA IgG Curve Control Strips (art.nr. 83-1016-01)

Humaan IgG (20 μ g/l); in PBS met BSA, detergens en natriumazide (0,095%); symbool: CC-1	5 strips Elke strip bevat 6 x 0,3 ml CC-1 (dubbele bepaling)	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–8° C
----------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------

Bereid van humaan serum.

EliA IgG Calibrator Well (art.nr. 14-5509-01)

IgG Calibrator Well gecoat met monoklonale muizenantistoffen; test naam: Gcal	4 carriers (elk 12 wells); voldoende voor 48 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum droog bewaren bij 2–8° C
-------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------

Algemene reagentia voor Phadia 250**Development Solution (art.nr. 10-9440-01)**

Development Solution 0.01% 4-Methylumbelliferyl- β -D-galactoside, <0,0010% conserveringsmiddel*	6 flessen (elk 17 ml), voldoende voor 6 x >170 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–8° C NIET INVRIEZEN
--------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------

Development Solution (art.nr. 10-9441-01)

Development Solution 0.01% 4-Methylumbelliferyl- β -D-galactoside, <0,0010% conserveringsmiddel*	6 flessen (elk 11 ml), voldoende voor 6 x >110 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–8° C NIET INVRIEZEN
--------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------

* Conserveringsmiddel: mengsel van 5-chloor-2-methyl-2H-isothiazool-3-on [EG-nr. 247-500-7] en 2-methyl-2H-isothiazool-3-on [EG-nr. 220-239-6] (3:1).

Stop Solution (art.nr. 10-9442-01)

Stop Solution 4% natriumcarbonaat	6 flessen (elk 119 ml), voldoende voor 6 x >560 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–32° C
-----------------------------------	------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------

Stop Solution (art.nr. 10-9479-01)

Stop Solution 4% natriumcarbonaat	6 flessen (elk 65 ml), voldoende voor 6 x >292 bepalingen	Klaar voor gebruik; tot vervaldatum bewaren bij 2–32° C
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------

Dilution Plates (art. nr. 12-3907-08)

MicroWell™-platen met 96 wells van 0,5 ml elk; polypropyleen	100 Dilution Plates per verpakking; voldoende voor 100 x 96 monsters	Gereed voor gebruik NIET OPNIEUW GEBRUIKEN
--------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------

Washing Solution (art.nr. 10-9422-01/10-9202-01)

Raadpleeg voor informatie de bijsluiters van de afzonderlijke Washing Solution.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- Voor in vitro diagnostisch gebruik.
- Gebruik niet na de vervaldatum.
- We raden het samenvoegen (poolen) van reagentia af.
- Draag tijdens het hanteren van de geleverde monsters en reagentia handschoenen.
- Sommige de reagentia zijn vervaardigd uit humane bloedbestanddelen. De bronmaterialen zijn met behulp van immunoassays getest op hepatitis B-oppervlakteantigenen, op antistoffen tegen hiv1, hiv2 en hepatitis C-virus, en zijn negatief bevonden. Niettemin moeten alle aanbevolen voorzorgsmaatregelen voor het hanteren van bloedproducten worden nageleefd. Raadpleeg Human Health Service (HHS) publicatienummer (CDC) 93-8395 (van het Amerikaanse ministerie van volksgezondheid en sociale diensten) of lokale en nationale richtlijnen voor laboratoriumveiligheidsprocedures.

WAARSCHUWING! Reagentia bevatten natriumazide (NaN_3) als conserveringsmiddel. NaN_3 kan toxisch zijn bij inname of absorptie door huid of ogen. NaN_3 kan reageren met lood- en koperleidingen en zeer explosieve metaalazides vormen. Bij het afvoeren moet u met veel water spoelen om opeenhoping van azide te voorkomen. Raadpleeg de ontsmettingsprocedures zoals uiteengezet door CDC of andere lokale en nationale richtlijnen. De afvalfles en ImmunoCAP/EliA Well afvalhouder kunnen besmet zijn met potentieel infectieus materiaal. Neem geschikte veiligheidsmaatregelen en draag handschoenen.

Indicatie van instabiliteit

De Phadia IDM/Prime heeft ingebouwde acceptatiegrenzen voor de kalibratiecurve en de curvecontrole. EliA Wells zijn gevoelig voor vocht. Activiteitsverlies kan optreden als gevolg van onjuiste behandeling en worden aangetoond met behulp van de juiste EliA Control. Raadpleeg voor meer informatie de gebruikershandleiding van het betreffende Phadia-instrument en de Phadia IDM-naslaggids/Phadia Prime-naslaggids.

INSTRUMENT

EliA-reagentia moeten worden gebruikt met de nieuwste softwareversies. De Phadia IDM/Prime-software verwerkt alle stappen van de test. Raadpleeg voor meer informatie over testopstelling, instrumentatie en software enzovoorts de Phadia IDM-naslaggids/Phadia Prime-naslaggids.

AFNAME, GEBRUIK EN VOORBEREIDING VAN MONSTERS

De procedure kan worden uitgevoerd met serum- of plasmamonsters. Lipemische, gehemolyseerde of microbiële verontreinigde monsters kunnen slechte resultaten opleveren en mogen niet worden gebruikt.

- Onverdunde monsters mogen niet langer dan acht uur bij kamertemperatuur blijven.¹⁰
- Onverdunde monsters kunnen twee weken bij 2-8 °C worden bewaard zonder dat er vermindering optreedt, onder de voorwaarde dat ze niet zijn besmet met bacteriën of schimmels. Voor langdurige opslag moeten ze worden ingevroren bij een temperatuur lager dan -20 °C.¹¹

Opmerking: Het is de verantwoordelijkheid van elk afzonderlijk laboratorium om uit alle beschikbare referenties en/of uit eigen onderzoeken specifieke stabiliteitscriteria voor eigen laboratorium vast te stellen. In het algemeen moeten laboratoria validatie-onderzoeken

uitvoeren voordat een verandering wordt doorgevoerd in de acceptatiecriteria van het monster.¹⁰

Monsterverdunning

Monster moeten worden verdund met EliA Sample Diluent. Een monsterverdunning van 1:100 van de monsters is vereist voor de EliA CCP-test. Monsters kunnen handmatig worden verdund, maar instrumentverdunning wordt aanbevolen en is een standaardinstelling in de software.

PROCEDURE

Gebbruik van EliA CCP Well

In de Phadia 250- Carrier Storage blijven de carries maximaal 28 dagen stabiel. Als u verwacht dit niet binnen deze termijn te verbruiken, kunnen de carriers op de Phadia 250- Loading Tray worden geplaatst en vanwege de stabiliteit van de carrier, na de run direct met gesloten dop in de foliezak met droogmiddel worden teruggedaan. Omdat het belangrijk is de wells onder droge omstandigheden bij 2 - 8 °C te bewaren, moet de zak goed opnieuw worden afgesloten. Bij opslag onder deze omstandigheden is de houdbaarheid vanaf de datum van eerste opening 9 maanden, indien niet beperkt door de expiratiedatum op de carrier en foliezak.

Lot-specifieke barcode

Gebruik de ingebouwde barcodelezer om de lot-specifieke informatie van EliA CCP Well, EliA IgG Calibrator Well en EliA IgG Conjugate in te voeren. Zorg ervoor dat u bij handmatige afhandeling de tekens onder de barcode invoert.

Stabiliteit van reagentia in het apparaat

• EliA Wells

EliA Well-carriers kunnen in het apparaat 28 dagen op 2 - 8 °C of 24 uur bij kamertemperatuur worden bewaard.

• EliA Calibrator Strips, EliA Curve Control Strips

Kunnen 28 dagen in het apparaat worden bewaard.

• EliA Sample Diluent

Kunnen op het apparaat 7 dagen bij kamertemperatuur worden bewaard. Herplaats doppen van de flessen op het eind van een werkdag.

• EliA Conjugate

Reagens voor eenmalig gebruik. Open flacons mogen niet worden bewaard.

• Development Solution

Kan op het apparaat 40 uur bij kamertemperatuur worden bewaard. Kan tijdens de houdbaarheidsperiode 5 keer a 8 uur bij kamertemperatuur worden bewaard. Herplaats doppen van de flessen op het eind van een werkdag. Tijdens weekends of langere perioden tussen instrumentgebruik wordt aanbevolen de flessen bij 2 - 8 °C te bewaren.

• Stop Solution

Kunnen op het apparaat 7 dagen bij kamertemperatuur worden bewaard. Herplaats doppen van de flessen op het eind van een werkdag.

• Washing Solution

De klaargemaakte oplossing kan 7 dagen bij kamertemperatuur in het apparaat worden bewaard. Gooi elke zevende dag weg en voer wekelijks onderhoud uit volgens de instrumenthandleiding.

Volumes per bepaling

Reagensvolumes per bepaling

Kalibrator	90 µl
EliA IgG Conjugate	90 µl
Development Solution	90 µl
Stop Solution	200 µl

Monstervolumes per bepaling

Handmatige verdunning	90 µl verdund monster
Instrumentverdunning (1:100)	20 µl onverdund monster

Raadpleeg de gebruikershandleiding van het betreffende Phadia Instrument voor buis-specifieke dode volumes.

Reagensvolumes per 200 bepalingen

Washing Solution	5 - 7 l*
Rinse vloeistof	5 - 6 l*

* Het restvolume is afhankelijk van het aantal monsters en de gebruikte verdunningsmethode.

Opmerkingen m.b.t. procedure

- Met één monster dat door het instrument is verdund (1:100) kunnen maximaal 11 bepalingen worden uitgevoerd.
- Wanneer u de standaard software gebruikt, worden de monsters in één bepaling uitgevoerd.
- De Washing Solution moet bij gebruik op kamertemperatuur zijn.
- Het eerste resultaat is na ca. 2 uur beschikbaar en volgende resultaten met tussenpozen van één minuut. Tot 5 x 10 monsters kunnen continu worden geladen en worden verwerkt in willekeurige volgorde.
- Incubaties worden automatisch uitgevoerd bij 37 °C (98,6 °F).

KALIBRATIE EN REFERENTIEMATERIAAL

De kalibratiecurve wordt verkregen met EliA IgG-kalibrators, die in duplo worden gemeten. De curve wordt opgeslagen en de daaropvolgende tests worden geëvalueerd aan de hand van de opgeslagen curve met alleen de EliA IgG Curve Control (in duplo uitgevoerd). De IgGkalibrators zijn via een ononderbroken reeks kalibraties traceerbaar tot de International Reference Preparation (IRP, (internationale standaardpreparatie) 67/86 van humane serumimmunoglobulines A, G en M van de Wereldgezondheidsorganisatie (WGO).

Er moet een nieuwe kalibratiecurve worden bepaald wanneer:

- de laatste kalibratie meer dan een maand geleden werd uitgevoerd of
- een nieuwe batch EliA IgG Conjugate wordt toegevoerd of
- wanneer de EliA IgG Curve Control buiten de opgegeven grenzen valt (gedefinieerd in Phadia IDM/Prime-software).

Er zijn geen internationale standaards voor CCP-antistoffen. De resultaten worden gegeven in willekeurige EliA Units/ml.

KWALITEITSCONTROLE

Controlemonsters

Goede laboratoriumpraktijk vereisen dat bij elke uitvoering kwaliteitscontrolemonsters worden meegenomen. Alle gebruikte materialen moeten herhaaldelijk worden getest voor het vaststellen van gemiddelde waarden en acceptatiebereiken. Voor de kwaliteitscontrole van de metingen zijn EliA Controls beschikbaar.

BEREKENING EN INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

Presentatie van resultaten

De Phadia 250 meet specifieke IgG-concentraties in µg/l. Met behulp van een conversiefactor die door de lot-specifieke code van de EliA CCP Well wordt bepaald, worden de resultaten automatisch omgezet in EliA U/ml.

Interpretatie van testresultaten

De aanbevolen bereiken (negatief, twijfelachtig, positief) voor de evaluatie van de resultaten worden in de tabel hieronder gegeven.

Test	Eenheid	Negatief	Dubieus	Positief
EliA CCP	EliA U/ml	< 7	7 – 10	> 10

Goede laboratoriumpraktijk vereisen dat elk laboratorium zijn eigen bereik van verwachte waarden bepaalt.

BEPERKINGEN

Een definitieve klinische diagnose mag niet uitgaan van de resultaten van één enkele diagnostische methode, maar mag pas door de arts worden gesteld na evaluatie van alle klinische en laboratoriumbevindingen.

VERWACHTE WAARDEN

De prevalentie van antistoffen bij auto-immuunpatiënten varieert sterk, afhankelijk van het ziektegebied. Het percentage sera van een normale populatie met een positief resultaat voor de antistoffen die onder de EliA CCP-test vallen, is lager dan 1%.⁴ De verwachte waarden zijn afhankelijk van de geteste populatie.

Resultaten verkregen voor gezonde personen

De frequentieverdeling voor CCP-antistoffen is op het instrument Phadia 100 onderzocht in een groep van ogenschijnlijk gezonde proefpersonen, gelijk verdeeld naar leeftijd en geslacht, met behulp van sera van een blanke populatie, verkregen van een bloedbank. De resultaten worden in de tabel hieronder gegeven.

Test	Eenheid	Aantal monsters	Gemiddelde waarde	95%-percentiel	99%-percentiel
EliA CCP	EliA U/ml	400	2,6	4,3	6,2

Er is een vergelijkend onderzoek uitgevoerd tussen Phadia 100 en Phadia 250 met 36 patiëntmonsters om de analytische prestaties van beide systemen te beoordelen. De resultaten tonen een goede overeenkomst aan.

PRESTATIEKENMERKEN

Meetbereik

Het meetbereik (detectielimiet) voor EliA CCP is 0,4 tot ≥ 340 EliA U/ml. Er is geen high-dose hook effect waargenomen voor concentraties tot tien maal boven het meetbereik. Alleen waarden boven de detectielimiet kunnen als geldige resultaten worden beschouwd. De bovengrens van de gerapporteerde resultaten kan variëren als gevolg van een batch-specifieke conversie van µg/l naar EliA U/ml. Resultaten boven de bovengrens worden gerapporteerd als “groter dan”.

Houd er rekening mee dat vanwege verschillende bindingskarakteristieken van de antistoffen in patiëntmonsters, niet alle sera lineair in het meetbereik kunnen worden verdund.

Specificiteit

Met de EliA CCP-test kunnen IgG-antistoffen tegen het CCP-antigeen worden bepaald zoals beschreven in de paragraaf “Reagentia/Materiaal”.

Precisie

Om de precisie van de assay te bepalen, werd de variabiliteit beoordeeld in een studie met 13 runs door 3 monsters op 3 instrumenten te bestuderen. De statistische evaluatie werd uitgevoerd met behulp van een variantie-analyse. De resultaten worden in de tabel hieronder gegeven.

Test	Monster	Eenheid	Gemiddelde waarde	Variatiecoëfficiënten (%)	
				Intra-run	Inter-run
EliA CCP	1	EliA U/ml	9,1	10,5	7,7
	2	EliA U/ml	15,7	7,9	5,7
	3	EliA U/ml	63,3	6,0	3,3

GARANTIE

De hier gepresenteerde prestatiegegevens zijn verkregen met behulp van de beschreven procedure. Elke wijziging of modificatie van de procedure die niet door Phadia AB wordt aanbevolen, kan de resultaten beïnvloeden, en in dat geval verwerpt Phadia AB alle expliciete of impliciete garanties, inclusief de impliciete garantie van verkoopbaarheid en geschiktheid voor gebruik.

Phadia AB en haar erkende distributeurs zijn in dat geval niet aansprakelijk voor schade, of dit nu indirecte of gevolgschade is.

REFERENTIES

- Bas S, Perneger TV, Seitz M et al. (2002) Diagnostic tests for rheumatoid arthritis: comparison of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and IgM rheumatoid factors. *Rheumatology* 41, 809-814
- Borretzen M, Mellbye OJ, Thompson KM et al. (1996) Rheumatoid Factors. In: Peter JB, Shoenfeld Y (eds) *Autoantibodies*, 706 - 715; Elsevier Amsterdam
- Schellekens GA, De Jong BAW, van den Hoogen FHJ et al. (1998) Citrulline is an Essential Constituent of Antigenic Determinants Recognized by Rheumatoid Arthritis-specific Autoantibodies. *J Clin Invest* 101, 273-281
- Schellekens GA, Visser H, De Jong BAW et al. (2000) The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 43, 155-163
- Kroot EJJ, de Jong BAW, van Leeuwen MA et al. (2000) The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 43, 1831-1835
- Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ et al. (2004) Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCP) predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum* 50, 709-715

