



**AESKULISA<sup>®</sup>**  
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

**INSTRUCTION  
MANUAL**

**AESKULISA<sup>®</sup> Sm**

*Ref 3106*







|                 |                 |
|-----------------|-----------------|
| Product Ref.    | 3106            |
| Product Desc.   | Sm              |
| Manual Rev. No. | 005: 2025-03-12 |

## Οδηγίες χρήσης

### Περιεχόμενα

|    |  |    |
|----|--|----|
| 1  | Ενδεδειγμένη χρήση .....                         | 1  |
| 2  | Κλινική εφαρμογή και αρχές της μεθόδου .....     | 1  |
| 3  | Συστατικά στοιχεία που περιέχονται στο σετ ..... | 2  |
| 4  | Φύλαξη και χρόνος διατήρησης.....                | 2  |
| 5  | Υποδείξεις και προφυλάξεις .....                 | 3  |
| 6  | Λήψη δείγματος, προετοιμασία και φύλαξη .....    | 4  |
| 7  | Διαδικασία της μεθόδου .....                     | 4  |
| 8  | Ποσοτική και ποιοτική ερμηνεία .....             | 7  |
| 9  | Τεχνικά στοιχεία .....                           | 8  |
| 10 | Στοιχεία Απόδοσης .....                          | 8  |
| 11 | Διάθεση .....                                    | 9  |
| 12 | Βιβλιογραφία.....                                | 9  |
| 13 | Ρυθμιστικά σύμβολα .....                         | 10 |



## 1 Ενδεδειγμένη χρήση

**AESKULISA® Sm** είναι μία Ενζυμοανοσολογική μέθοδος στερεής φάσης που περιέχει υψηλής καθαρότητας φυσικό αντιγόνο Smith (Sm) από μία ανθρώπινη ευκαρυωτική κυτταρική σειρά (HeLa). Η δοκιμασία επιτρέπει τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων έναντι του Sm στον ανθρώπινο ορό. Τα αντί- Sm αντισώματα αναγνωρίζουν ειδικά επίτοπα της διαμόρφωσης, τα οποία περιέχονται ή είναι προσιτά μόνο στο φυσικό Sm.

Ο προσδιορισμός αυτών των αντισωμάτων εξυπηρετεί στη διάγνωση του συστηματικού ερυθρηματώδη λύκου (ΣΕΛ). Το kit δοκιμής προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση σε εργαστήρια.

## 2 Κλινική εφαρμογή και αρχές της μεθόδου

Ο όρος «αντιγόνο Smith» περιλαμβάνει πυρηνικές πρωτεΐνες του συμπλόκου U1-snRNP (small nuclear ribonucleoprotein complex). Το σύμπλοκο U1-snRNP αποτελείται από πλούσιο σε ουριδίνη (U), μικρό πυρηνικό RNA και πρωτεΐνες, στις οποίες εκτός από το αντιγόνο Sm ανήκουν και οι ριβονουκλεϊκές πρωτεΐνες A και C και μία 70 kDa πρωτεΐνη, η οποία εμφανίζεται ειδικά μόνο στο σύμπλοκο U1-snRNP. Το αντιγόνο Sm αποτελείται από οκτώ πρωτεΐνες: B/B', D1, D2, D3, E, F και G. Σύμφωνα με τα συστατικά του στοιχεία Sm και RNPs, το σύμπλοκο χαρακτηρίζεται συχνά και ως RNP/Sm. Το U1-snRNP αποτελεί συστατικό στοιχείο του συμπλέγματος που είναι υπεύθυνο για το μάτισμα, το οποίο συμμετέχει στην ωρίμανση του προ-mRNA σε RNA στον κυτταρικό πυρήνα. Τα αντισώματα έναντι του Sm πρωτεΐνης ανήκουν στην ετερογενή ομάδα των αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA), τα οποία τάσσονται ενάντια σε διάφορες πρωτεΐνες του κυτταρικού πυρήνα. Η διαπίστωση των ANA γινόταν αρχικά με τη δοκιμασία του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IFT) σε ευκαρυωτικά κύτταρα όπως π.χ. τα κύτταρα HeLa. Με βάση τις διαφορετικές σχηματομορφές του φθορισμού είναι δυνατό να διακριθεί η ειδικότητα του κάθε ANA, η διαπίστωση όμως των αυτοαντισωμάτων στο ELISA με τα αντίστοιχα ειδικά αντιγόνα επιτρέπει μία ευκολότερη και πιο αξιόπιστη διαφοροποίηση των ANA.

Τα αντί – Sm έχουν όπως και τα αντισώματα έναντι του δίκλωνου DNA (dsDNA) υψηλή ειδικότητα για το συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και αποτελούν έτσι ένα από τα κριτήρια ταξινόμησης στη διάγνωση του ΣΕΛ. αντί-Sm αντισώματα εμφανίζονται σε 20-30% των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ. Τα αντί-Sm αντισώματα συνδέονται συνήθως με τις B'/B και D, περιστασιακά με την E και σπάνια με τις F και G.

### Αρχές της δοκιμασίας

Τα διαλυμένα 1:101 δείγματα ορού επωάζονται στις μικροπλάκες, οι οποίες είναι επικαλυμμένες με το ειδικό αντιγόνο. Κατά τη διάρκεια της επώασης συνδέονται τα ειδικά αντισώματα από τον ορό των ασθενών, εάν αυτά υπάρχουν, με το αντιγόνο που βρίσκεται στην πλάκα, τα μη συνδεδεμένα στοιχεία του ορού απομακρύνονται στο επόμενο βήμα πλύσης. Έπειτα προσθέτονται αντι-ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες, οι οποίες είναι συζευγμένες με υπεροξειδάση από ραφανίδα (σύζευγμα). Κατά τη διάρκεια μίας επώασης, το σύζευγμα (συζευγμένες ανοσοσφαιρίνες) συνδέεται με το σύμπλοκο αντιγόνου – αντισώματος που σχηματίστηκε πριν, οι μη συζευγμένες ανοσοσφαιρίνες απομακρύνονται στο επόμενο βήμα πλύσης. Η διαπίστωση των συνδεδεμένων αντισωμάτων πραγματοποιείται με ενζυματική χρωστική αντίδραση (μπλε) του υποστρώματος, η οποία αναστέλλεται με διαλυμένο οξύ (αλλαγή χρώσης σε κίτρινο). Ο βαθμός σχηματισμού χρώματος από το χρωμογόνο εξαρτάται από την ποσότητα συζεύγματος που βρίσκεται συνδεδεμένη με το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος και έτσι είναι ανάλογος προς την αρχική συγκέντρωση των αντίστοιχων αντισωμάτων στο δείγμα ασθενούς.



### 3 Συστατικά στοιχεία που περιέχονται στο σετ

| <b>ΔΙΑΛΥΟΝΤΑΙ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ</b>   |                |                     |                     |  |
|---|----------------|---------------------|---------------------|--|
| Στοιχείο  | Ποσότητα       | Χρώμα καπακιού      | Χρώμα διαλύματος    | Περιγραφή / Περιεχόμενο  |
| Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων (5x)   | 1 x 20ml       | Λευκό               | Κίτρινο             | 5πλάσια συγκέντρωση Tris, χλωριούχο νάτριο (NaCl), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)   |
| Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (50x)   | 1 X 20ml       | Λευκό               | Πράσινο             | 50πλάσια συγκέντρωση Tris, NaCl, Tween 20, οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)  |
| <b>ΕΤΟΙΜΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ</b>   |                |                     |                     |  |
| Στοιχείο  | Ποσότητα       | Χρώμα καπακιού      | Χρώμα διαλύματος    | Περιγραφή / Περιεχόμενο  |
| Αρνητικός ορός ελέγχου  | 1 x 1,5ml      | Πράσινο             | Διαυγές             | υλικό ελέγχου (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)  |
| Θετικός ορός ελέγχου  | 1 x 1,5ml      | Κόκκινο             | Κίτρινο             | υλικό ελέγχου (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)  |
| Αντιδραστήριο βαθμονόμησης οριακής τιμής  | 1 x 1,5ml      | Μπλε                | Κίτρινο             | υλικού βαθμονόμησης (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)  |
| Αντιδραστήρια βαθμονόμησης  | 6 x 1,5ml      | Λευκό               | Κίτρινο*            | Συγκέντρωση κάθε αντιδραστήριου βαθμονόμησης: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. υλικού βαθμονόμησης (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό) |
| Συζεύγματα, IgG   | 1 x 15ml       | Μπλε                | Μπλε                | Συστατικά στοιχεία: ανοσοσφαιρίνη σημαδεμένη με υπεροξειδάση από ραφανίδα, αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)   |
| Υπόστρωμα TMB   | 1 x 15ml       | Μαύρο               | Διαυγές             | Σταθεροποιημένη τετραμεθυλβενζιδίνη και υπεροξειδίου του υδρογόνου (TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )  |
| Διάλυμα διακοπής αντίδρασης   | 1 x 15ml       | Λευκό               | Διαυγές             | 1M Υδροχλωρικό οξύ   |
| Πλάκα μικροπιλοποίησης  | 12 x 8 ταινίες | Δεν είναι διαθέσιμο | Δεν είναι διαθέσιμο | Με αποσπώμενους υποδοχείς. Ανατρέξτε στην παράγραφο 1 για πληροφορίες σχετικά με την επικάλυψη.  |
| * Η ένταση του χρώματος αυξάνεται με τη συγκέντρωση   |                |                     |                     |  |
| <b>Απαιτούμενα υλικά:</b>   |                |                     |                     |  |
| Ο αναγνώστης πλακών μικροπιλοποίησης 450 nm αναγιγνώσκει φίλτρα ανάγνωσης και προαιρετικό 620 nm φίλτρα αναφοράς (600-690 nm). Γυάλινα εξαρτήματα (κύλινδρος 100-1000ml), δοκιμαστικοί σωλήνες για διαλύματα. Δονητής ανάμιξης, προχοίδες ακρίβειας (10, 100, 200, 500, 1000 μl) ή προσαρμοζόμενη πολυπροχοίδα (100-1000μl). Συσκευή πλύσης μικροπλάκας (300ml επαναλαμβανόμενη προχοίδα, ή προχοίδα πολλαπλών καναλιών ή αυτοματοποιημένο σύστημα), απορροφητικό χαρτί. Οι δοκιμασίες μας έχουν ως σχεδιαστεί για να χρησιμοποιηθούν με καθαρό ύδωρ σύμφωνα με τους ορισμούς της Φαρμακοποιίας Ηνωμένων Πολιτειών (USP 26 - NF 21) και της Ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας (Eur.Ph. 4th ed.). |                |                     |                     |  |

### 4 Φύλαξη και χρόνος διατήρησης

Τα αντιδραστήρια του συνόλου αντιδραστηρίων και η μικροπλάκα πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C/35,6-46,4°F μέσα στους αυθεντικούς περιέκτες. Αραιωμένα διαλύματα, φυλάσσονται στους 2-8°C/35,6-46,4°F για ένα μήνα. Πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στη συσκευασία και στις ετικέτες του κάθε συστατικού.

Μη χρησιμοποιείται ληγμένα συστατικά στοιχεία του συνόλου αντιδραστηρίων! Πρέπει να αποφεύγεται η έντονη επίδραση φωτός στο διάλυμα υποστρώματος TMB. Οι μικροπλάκες να φυλάσσονται πάντοτε με ξηραντικό υλικό καλά κλεισμένες μέσα στη μεμβράνη της συσκευασίας.

## 5 Υποδείξεις και προφυλάξεις

### 5.1 Επικινδυνότητα για την υγεία

**ΑΥΤΟ ΤΟ ΠΡΟΪΟΝ ΕΠΙΤΡΕΠΕΤΑΙ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΧΡΗΣΗ (IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ).**

Πρέπει να χρησιμοποιείται από προσωπικό, το οποίο έχει κατατοπιστεί και εκπαιδευτεί ειδικά στη χρησιμοποίηση in vitro διαγνωστικών υλικών. Αν και αυτό το προϊόν δεν θεωρείται ιδιαίτερα τοξικό ή επικίνδυνο υπό συνθήκες ενδεδειγμένης χρήσης, συμβουλευτείτε τις παρακάτω πληροφορίες για τη διαφύλαξη της μέγιστης ασφάλειας:

#### **Συστάσεις και μέτρα προφύλαξης**

Μεμονωμένα συστατικά του συνόλου αντιδραστηρίων περιέχουν δυνητικά επικίνδυνα αντιδραστήρια, τα οποία είναι δυνατό να προκαλέσουν ερεθισμό των οφθαλμών και του δέρματος. ΠΡΟΣΟΧΗ! Διακριβωτές, έλεγχοι και ρυθμιστικά διαλύματα περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN<sub>3</sub>) ως συντηρητικό. Το NaN<sub>3</sub> μπορεί να είναι τοξικό εάν προληφθεί ή απορροφηθεί από το δέρμα ή τα μάτια. Το NaN<sub>3</sub> μπορεί να αντιδράσει με την εγκατάσταση μολύβδου και χαλκού σχηματίζοντας ιδιαίτερα εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλο όγκο ύδατος για να αποτρέψετε τη δημιουργία αζιδίων. Παρακαλώ ανατρέξτε στις διαδικασίες απολύμανσης όπως περιγράφονται από τη CDC ή άλλες τοπικές/εθνικές οδηγίες.

**Κατά τη διάρκεια της εργασίας με το σετ, απαγορεύεται το φαγητό, το ποτό και το κάπνισμα. Μη χρησιμοποιείτε την προχοϊδα (πιπέττα) δια μέσω του στόματος, φοράτε γάντια μίας χρήσης.**

Τα αντιδραστήρια βιολογικός προέλευσης που περιέχονται σε αυτό το προϊόν αποδείχτηκαν κατά τον έλεγχο για ηπατίτιδα Β αντιγόνο επιφάνειας (HbsAg), ηπατίτιδα C και HIV 1 και 2 ως αρνητικά. Όμως, σε προϊόντα βιολογικός προέλευσης δε μπορεί ποτέ να αποκλειστεί πλήρως η πιθανότητα μόλυνσης με τους αναφερόμενους ή και με άλλους ακόμη άγνωστους παθογόνους οργανισμούς. Για τον λόγο αυτό, οι οροί ελέγχου, τα αντιδραστήρια βαθμονόμησης όπως επίσης και οι οροί των ασθενών χαρακτηρίζονται ως δυνητικά μολυσματικοί και πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα εθνικά νομικά αξιώματα.

Επειδή το kit περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης, όπως αναφέρεται στον πίνακα περιεχομένων, πρέπει να το χρησιμοποιείτε σύμφωνα με τις απαιτήσεις της εθνικής νομοθεσίας.

### 5.2 Γενικές υποδείξεις

Στην περίπτωση κατά την οποία οι πληροφορίες του προϊόντος, συμπεριλαμβανομένων των ετικετών, είναι ελλιπείς ή εσφαλμένες, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή του kit δοκιμής.

Μην μπλέκετε η αντικαθιστάτε Μάρτυρες, Βαθμονομητές, Ενζυμα Σύζευξης η μικροπλάκες από διαφορετικές παρτίδες. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αποκλίσεις στα αποτελέσματα.

Αφήστε όλα τα συστατικά του σετ να λάβουν θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της δοκιμασίας (20-32°C/68-89,6°F) και αναμείξτε καλά. Πρέπει οπωσδήποτε να τηρείται το καθορισμένο πρωτόκολλο για τη διεξαγωγή της δοκιμασίας.

**Επώαση: Συνιστούμε απόδοση δοκιμής στους 30°C/86°F για αυτοματοποιημένα συστήματα.**

Μην εκθέτετε ποτέ τα συστατικά του συνόλου αντιδραστηρίων σε θερμοκρασίες άνω των 37°C/98,6°F. Χρησιμοποιείτε για τη λήψη του διαλύματος του υποστρώματος πάντοτε καινούρια – συσκευασμένα ρύγχη για την πιπέτα, για να αποφεύγετε μολύνσεις. Αποφεύγετε την επαφή του διαλύματος υποστρώματος με έντονο φως. Μη χρησιμοποιείτε για το διάλυμα συζεύγματος ποτέ τα ίδια ρύγχη πιπέτας που έχουν έρθει σε επαφή με άλλα αντιδραστήρια.

**Η τελική κλινική διάγνωση δεν πρέπει να τίθεται μόνο με βάση τα αποτελέσματα της διεξαγμένης δοκιμασίας, αλλά από τον ιατρό λαμβάνοντας υπόψη όλα τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα. Η διάγνωση πρέπει να επιβεβαιώνεται χρησιμοποιώντας διαφορετικές διαγνωστικές μεθόδους.**



## 6 Λήψη δείγματος, προετοιμασία και φύλαξη

Συνιστάται η χρήση φρέσκων δειγμάτων ορού. Η λήψη του αίματος πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τα εθνικά νομικά αξιώματα. Να μη χρησιμοποιούνται: ικτερικά, λιπαιμικά, αιμολυμένα ή μολυσμένα από βακτήρια δείγματα ορού. Δείγματα ορών που περιέχουν σωματίδια, να τοποθετούνται με χαμηλή ταχύτητα στη συσκευή φυγοκέντρησης (<1000 x g). Συλλέγετε τα δείγματα αίματος σε καθαρά, στεγνά και κενά φιαλίδια.

Κατόπιν διαχωρισμού τα δείγματα πλάσματος πρέπει να χρησιμοποιηθούν εντός των πρώτων 8 ωρών, διαφορετικά πρέπει να φυλάσσονται κλεισμένα αεροστεγώς στους 2-8°C/35,6-46,4°F για 48 ώρες το μέγιστο. Σε περίπτωση που προβλέπεται μεγαλύτερη διάρκεια φύλαξης, τα δείγματα πρέπει να ψύχονται στους -20°C/-4°F. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4).

## 7 Διαδικασία της μεθόδου

### 7.1 Προετοιμασία

#### **Αραίωση συμπυκνωμένων αντιδραστηρίων:**

Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων: αραιώνετε 1:5 με αποσταγμένο νερό (π.χ. 20 ml συν 80 ml).

Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης: αραιώνετε 1:50 με αποσταγμένο νερό (π.χ. 20 ml συν 980 ml).

Για την αποφυγή τυχόν λαθών, συνιστάται η σήμανση των καπακιών των διάφορων αντιδραστηρίων βαθμονόμησης.

#### **Αραίωση των δειγμάτων των ασθενών:**

Δείγματα ορού: αραιώνετε και αναμειγνύετε 1:101 με αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων, π.χ. (1x) 1000 μl ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων + 10 μl ορός.

#### **Πλύση:**

Απαιτούνται 20 ml αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (1x) ανά 8 βυθίσματα ή 200 ml ανά 96 βυθίσματα π.χ. 4 ml συμπύκνωμα συν 196 ml αποσταγμένο νερό.

#### **Αυτοματοποιημένη πλύση:**

Για τη λειτουργία του εργαλείου και το νεκρό όγκο πρέπει να ληφθούν υπόψη πρόσθετες ποσότητες ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης

#### **Χειροκίνητη πλύση:**

Απομακρύνετε το υγρό χτυπώντας την πλάκα επάνω σε ένα απορροφητικό χαρτί. Βάζετε 300 μl αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σε κάθε βύθισμα χρησιμοποιώντας την πιπέτα, περιμένετε 20 δευτερόλεπτα. Επαναλάβετε τη διαδικασία ακόμη δύο φορές.

#### **Μικροπλάκες:**

Απομακρύνετε τα βυθίσματα που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί και φυλάσσετε τα με ξηραντικό υλικό καλά κλεισμένα μέσα στη μεμβράνη της συσκευασίας σε δροσερό μέρος (2-8°C/35,6-46,4°F).

## 7.2 Σχήμα διανομής αντιδραστηρίων

Προτείνουμε τη χρήση της πιπέτας για αντιδραστήρια βαθμονόμησης, ορούς ελέγχου και δείγματα ως εξής:

| Για ΠΟΣΟΤΙΚΗ ερμηνεία |       |       |     |     | Για ΠΟΙΟΤΙΚΗ ερμηνεία |    |     |   |      |
|-----------------------|-------|-------|-----|-----|-----------------------|----|-----|---|------|
|                       | 1     | 2     | 3   | 4.. |                       | 1  | 2   | 3 | 4... |
| <b>A</b>              | Cal A | Cal E | P1  |     | <b>A</b>              | NC | P2  |   |      |
| <b>B</b>              | Cal A | Cal E | P1  |     | <b>B</b>              | NC | P2  |   |      |
| <b>C</b>              | Cal B | Cal F | P2  |     | <b>C</b>              | CC | P3  |   |      |
| <b>D</b>              | Cal B | Cal F | P2  |     | <b>D</b>              | CC | P3  |   |      |
| <b>E</b>              | Cal C | PC    | P3  |     | <b>E</b>              | PC | ... |   |      |
| <b>F</b>              | Cal C | PC    | P3  |     | <b>F</b>              | PC | ... |   |      |
| <b>G</b>              | Cal D | NC    | ... |     | <b>G</b>              | P1 | ... |   |      |
| <b>H</b>              | Cal D | NC    | ... |     | <b>H</b>              | P1 | ... |   |      |

CalA: calibrator A

CalD: calibrator D

PC: positive control

P1: patient 1

CalB: calibrator B

CalE: calibrator E

NC: negative control

P2: patient 2

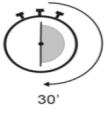
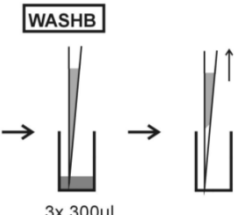
CalC: calibrator C

CalF: calibrator F

CC: cut-off calibrator

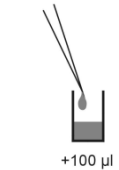
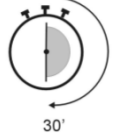
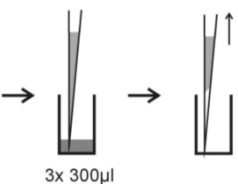
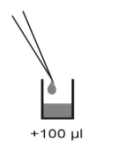
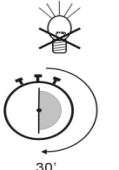
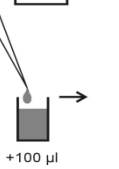
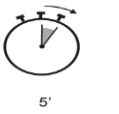

P3: patient 3

## 7.3 Βήματα εργασίας

| Βήμα                               | Περιγραφή  |
|------------------------------------|--|
| 1.                                 | Πριν από το πιπετάρισμα βεβαιωθείτε ότι έχετε εκτελέσει τη διαδικασία προετοιμασίας από το βήμα 7.1 παραπάνω.  |
| 2.                                 | Ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα ανάλογα με τα επιθυμητά αποτελέσματα ποιοτικής/ποσοτικής ερμηνείας:   |
| <b>ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ &amp; ΔΕΙΓΜΑΤΑ</b> |  |
| 3.                                 | <p>Βάζετε στα προβλεπόμενα βυθίσματα 100 μl από ένα από τα παρακάτω υλικά χρησιμοποιώντας την πιπέτα, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 7.2 παραπάνω:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Αντιδραστήρια βαθμονόμησης (CAL.A έως CAL.F) για <b>ΠΟΣΟΤΙΚΗ</b> ερμηνεία ή</li> <li>Αντιδραστήριο βαθμονόμησης οριακής τιμής (CC) για <b>ΠΟΙΟΤΙΚΗ</b> ερμηνεία</li> </ol> <p>Επίσης, βάζετε από 100 μl από καθένα από τα παρακάτω:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Αρνητικός ορός ελέγχου (NC) και θετικός ορός ελέγχου (PC) καθώς και</li> <li>Διαλυμένο ορό ασθενών (P1, P2...)</li> </ul> |
| 4.                                 |  <p>Επωάζετε για 30 λεπτά σε 20-32°C/ 68-89,6°F.</p>  |
| 5.                                 |  <p>Πλένετε 3 φορές, κάθε φορά με 300 μl ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (αραιωμένο 1:50).</p>  |



|                 |                 |
|-----------------|-----------------|
| Product Ref.    | 3106            |
| Product Desc.   | Sm              |
| Manual Rev. No. | 005: 2025-03-12 |

| ΣΥΖΕΥΓΜΑ                    |   |
|-----------------------------|---|
| 6.                          | <p><b>CONJ</b></p>  <p>+100 µl</p> <p>Βάζετε 100 µl διαλύματος συζεύγματος σε κάθε υποδοχέα χρησιμοποιώντας πιπέτα.</p>  |
| 7.                          |  <p>30'</p> <p>Επώαζετε για 30 λεπτά σε 20-32°C/ 68-89,6°F.</p>  |
| 8.                          | <p><b>WASHB</b></p>  <p>3x 300µl</p> <p>Πλένετε 3 φορές, κάθε φορά με 300 µl ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (αραιωμένο 1:50).</p>   |
| ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ                   |   |
| 9.                          | <p><b>SUB</b></p>  <p>+100 µl</p> <p>Βάζετε 100 µl διαλύματος υποστρώματος TMB σε κάθε υποδοχέα χρησιμοποιώντας την πιπέτα.</p>   |
| 10.                         |  <p>30'</p> <p>Επώαζετε για 30 λεπτά σε 20-32°C/ 68-89,6°F. Προστατεύστε από το έντονο φως.</p>  |
| ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ |   |
| 11.                         | <p><b>STOP</b></p>  <p>+100 µl</p> <p>Βάζετε 100 µl διαλύματος διακοπής αντίδρασης σε κάθε βύθισμα με τη σειρά που τοποθετήθηκε το υπόστρωμα χρησιμοποιώντας την πιπέτα.</p> |
| 12.                         |  <p>5'</p> <p>Επώαζετε για 5 λεπτά τουλάχιστον.</p>  |
| 13.                         | <p>Ανακινείτε προσεκτικά την πλάκα για 5 δευτερόλεπτα.</p>  |
| 14.                         |  <p>OD<sub>450</sub> - OD<sub>620</sub></p> <p>450/620 nm</p> <p>Μετρήστε την απορρόφηση στα 450 nm εντός 30 λεπτών (συνιστάται προαιρετικά και στα 450/620 nm).</p>         |



## 8 Ποσοτική και ποιοτική ερμηνεία

Ο **ποσοτικός προσδιορισμός** επιτυγχάνεται βάσει μίας πρότυπης καμπύλης, στην οποία μεταφέρεται η οπτική πυκνότητα των αντιδραστηρίων βαθμονόμησης (άξονας ψ) έναντι της συγκέντρωσης σε U/ml (άξονας x). Για τον καλύτερο προσδιορισμό συνιστάται η μεταφορά log/lin και ένα Fit 4 παραμέτρων. Με βάση την καμπύλη εξακριβώνεται από την οπτική πυκνότητα του δείγματος η συγκέντρωση των αντισωμάτων σε U/ml.

| Περιοχή φυσιολογικών τιμών | Απροσδιόριστα | Θετικά αποτελέσματα |
|----------------------------|---------------|---------------------|
| < 12 U/ml                  | 12 - 18 U/ml  | >18 U/ml            |

### Παράδειγμα προσδιορισμού

Αυτό το παράδειγμα δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών.

| Αντιδραστήρια βαθμονόμησης IgG | OD 450/620 nm | CV % (Διακύμανση) |
|--------------------------------|---------------|-------------------|
| 0 U/ml                         | 0,015         | 1,2               |
| 3 U/ml                         | 0,138         | 0,1               |
| 10 U/ml                        | 0,327         | 1,7               |
| 30 U/ml                        | 0,651         | 2,3               |
| 100 U/ml                       | 1,264         | 2,9               |
| 300 U/ml                       | 2,081         | 1,4               |

### Παράδειγμα υπολογισμού

| Ασθενής | Επανάληψη (OD) | Μέσος όρος (OD) | Αποτέλεσμα (U/ml) |
|---------|----------------|-----------------|-------------------|
| P 01    | 0,594/0,598    | 0,596           | 26,6              |
| P 02    | 0,878/0,854    | 0,866           | 49,3              |

Τα δείγματα με τιμές μεγαλύτερες από το μέγιστο εύρος τιμών των αντιδραστηρίων βαθμονόμησης πρέπει να αναφέρονται ως ">Μέγ." Πρέπει να αραιώνονται κατάλληλα και να δοκιμάζονται ξανά. Τα δείγματα με τιμές μικρότερες από το εύρος τιμών των αντιδραστηρίων βαθμονόμησης πρέπει να αναφέρονται ως "<Ελάχ."

Ειδικά στοιχεία της παρτίδας, αναγράφονται στο συναπτόμενο πιστοποιητικό ελέγχου. Ιατρικά εργαστήρια μπορούν να διεξάγουν ελέγχους ποιότητας στο χώρο τους με δικούς τους ελέγχους και/ ή ορούς από την τράπεζα αίματος σύμφωνα με της ρυθμίσεις της Ε.Ε..

Συνιστάται σε κάθε εργαστήριο να δημιουργήσει τις δικές του φυσιολογικές τιμές, βασισμένες στη δική του τεχνική, ελέγχους, εξοπλισμό και πληθυσμούς ασθενών.

Στην περίπτωση κατά την οποία οι τιμές των ορών ελέγχου δεν συμφωνούν με τα κριτήρια, η δοκιμή είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί.

Θα πρέπει να ελεγχθούν τα παρακάτω τεχνικά ζητήματα: Ημερομηνίες λήξης των αντιδραστηρίων (που προετοιμάστηκαν), συνθήκες αποθήκευσης, πιπέτες, συσκευές, φωτόμετρο, συνθήκες επώασης και μέθοδος πλύσης.

Εάν τα στοιχεία τα οποία υποβλήθηκαν σε δοκιμή παρουσιάζουν απόκλιση ή άλλου είδους διαφοροποίηση από τις αναμενόμενες τιμές ή εάν δεν πληρούνται τα κριτήρια εγκυρότητας χωρίς εύλογη αιτία, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή του kit δοκιμής.

Για **ποιοτική αξιολόγηση** διαβάστε την οπτική πυκνότητα του μάρτυρα αποκοπής (cut-off calibrator) και την αντίστοιχη των δειγμάτων ασθενών. Συγκρίνετε την οπτική πυκνότητα των δειγμάτων με αυτή του μάρτυρα. Για την ποιοτική αξιολόγηση προτείνεται να θεωρούνται τα δείγματα 20% γύρω από την τιμή του μάρτυρα σαν απροσδιόριστα. Όλα τα δείγματα με υψηλότερες τιμές θεωρούνται θετικά, δείγματα με χαμηλότερες τιμές αρνητικά.

|                       |                             |   |  |
|-----------------------|-----------------------------|---|--|
| <b>Αρνητικό:</b>      | OD <sub>ασθενή</sub>        | < | 0.8 x OD <sub>cut-off</sub>                        |
| <b>Απροσδιόριστα:</b> | 0.8 x OD <sub>cut-off</sub> | ≤ | OD <sub>ασθενή</sub> ≤ 1.2 x OD <sub>cut-off</sub> |
| <b>Θετικό:</b>        | OD <sub>ασθενή</sub>        | > | 1.2 x OD <sub>cut-off</sub>                        |



## 9 Τεχνικά στοιχεία

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Υλικό δειγμάτων:           | Ορός  |
| Όγκος δειγμάτων:           | 10 μl ορός για αραιώση 1:101 με 1x ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων |
| Ολικός χρόνος επώασης:     | 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου 20-32°C/68-89,6°F              |
| Περιοχή μέτρησης:          | 0-300 U/ml  |
| Αναλυτική Ευαισθησία:      | 2,82 U/ml   |
| Φύλαξη:                    | σε 2-8 °C/35,6-46,4°F στις αυθεντικές φιάλες                    |
| Αριθμός των προσδιορισμών: | 96 δοκιμασίες   |

## 10 Στοιχεία Απόδοσης

### 10.1 Εύρος φυσιολογικών τιμών

Οροί αίματος υγιών δοτών υποβλήθηκαν στην ανοσολογική δοκιμασία **AESKULISA® Sm** και από τα αποτελέσματα προέκυψε η ακόλουθη κατανομή:

| Αριθμός δειγμάτων | αρνητικά    | οριακά  | θετικά   |
|-------------------|-------------|---------|----------|
| 80                | 79 (99,7 %) | 0 (0 %) | 1 (1,3%) |

Συνιστούμε, επίσης, κάθε εργαστήριο να καθορίσει το δικό του εύρος φυσιολογικών τιμών.

### 10.2 Ακρίβεια

Η ακρίβεια των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την ανοσολογική δοκιμασία **AESKULISA® Sm**, REF 3106 αξιολογήθηκε με βάση τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας και της αναπαραγωγιμότητας καθώς και της διακύμανσης στις αναλύσεις πολλών δειγμάτων διαφορετικών δραστηριοτήτων αντισωμάτων.

| Ταυτότητα δείγματος | Επαναληψιμότητα   |       | Παραγωγιμότητα    |       | Ακρίβεια          |       |
|---------------------|-------------------|-------|-------------------|-------|-------------------|-------|
|                     | Μέσος όρος (U/ml) | CV    | Μέσος όρος (U/ml) | CV    | Μέσος όρος (U/ml) | CV    |
| Δείγμα 1            | 7,51              | 8,7%  | 7,51              | 20,6% | 8,11              | 17,8% |
| Δείγμα 2            | 20,32             | 11,2% | 20,32             | 12,2% | 20,57             | 10,7% |
| Δείγμα 3            | 36,10             | 7,1%  | 36,10             | 8,3%  | 35,59             | 8,5%  |
| Δείγμα 4            | 77,31             | 6,0%  | 77,31             | 7,6%  | 77,84             | 5,5%  |
| Δείγμα 5            | 185,21            | 5,7%  | 185,21            | 7,7%  | 187,14            | 5,2%  |

### 10.3 Ευαισθησία και εξειδίκευση Αναλυτική ευαισθησία

Η αναλυτική ευαισθησία έχει αξιολογηθεί με βάση πολλαπλές αναλύσεις δειγμάτων με ρυθμιστικό διάλυμα και χαμηλών θετικών δειγμάτων και με υπολογισμό του ορίου ανίχνευσης. Για τη δοκιμασία **AESKULISA® Sm**, REF 3106 έχει καθοριστεί ένα **όριο ανίχνευσης 2,82 U/ml**.



|                 |                 |
|-----------------|-----------------|
| Product Ref.    | 3106            |
| Product Desc.   | Sm              |
| Manual Rev. No. | 005: 2025-03-12 |

## 10.4 Γραμμικότητα

Τρεις οροί αίματος που καλύπτουν το συνολικό εύρος της δοκιμασίας αραιώθηκαν σε σειρά με ένα αρνητικό δείγμα ορού αίματος. Οι τιμές των ξεχωριστών διαλυμάτων που προέκυψαν από τη μέτρηση και οι αναμενόμενες τιμές χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό μιας γραμμικής παλινδρόμησης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του ελέγχου γραμμικότητας προσδιορίστηκε ένα εύρος 3 - 300 U/ml για τη δοκιμασία **AESKULISA® Sm**.

## 10.5 Διακρίβωση

Το **AESKULISA® Sm** έχει διακριβωθεί έναντι ενός ορού αναφοράς του CDC Atlanta (Centers for Disease Control and Prevention). Τα αποτελέσματα δίδονται σε U/ml.

## 11 Διάθεση

Παρακολουθήστε τις σχετικές κανονιστικές απαιτήσεις!

## 12 Βιβλιογραφία

**Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al (1982).** The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25: 1271.

**Peter JB, Shoenfeld Y (1996).** Autoantibodies. Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.

**Hackl W, Fischer U, Luhrmann R (1994).** A 69 kD protein that associates reversibly with the Sm core domain of several splicosomal snRNP species. *J Cell Biol* 124: 261-272.

**Rokeach LA and Hoch SO (1992).** B-cell epitopes of Sm autoantigens. *Mol Biol Rep* 16: 165-174.





















**Klein Gunnewiek JMT, Van de Putte LBA, van Venrooij WJ (1997).** The U1 snRNP complex: An autoantigen in connective tissue diseases: An update. *Clin Exp Rheumatol* 15: 549-560.

**Von Mühlen CA, Tan EM (1995).** Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 24: 323-358.

Lothar Thomas: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik., 8. Auflage, TH Books

CLSI Guideline GP44-A4: Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests

## 13 Ρυθμιστικά σύμβολα

|   |   |   |
|---|---|---|
|    | - Diagnosi in vitro<br>- Pour diagnostic in vitro<br>- In Vitro Diagnostikum<br>- Para uso Diagnóstico in vitro   | - For in vitro diagnostic use<br>- Para uso diagnóstico in vitro<br>- In Vitro Διαγνωστικό μέσο   |
|    | - Numero d'ordine<br>- Référence Catalogue<br>- Bestellnummer<br>- Número de catálogo   | - Catalogue number<br>- Numéro de catálogo<br>- Αριθμός παραγγελίας   |
|    | - Descrizione lotto<br>- Lot<br>- Chargen Bezeichnung<br>- Lote   | - Lot<br>- Lote<br>- Χαρακτηρισμός παρτίδας   |
|    | - Identificatore univoco del dispositivo<br>- Identifiant unique de l'appareil<br>- eindeutige Produktidentifizierung<br>- Identificador único do dispositivo   | - Unique Device Identifier<br>- Identificador único del dispositivo<br>- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής                                |
|    | - Conformità europea<br>- Déclaration CE de Conformité<br>- Europäische Konformität<br>- Declaração CE de Conformidade  | - EC Declaration of Conformity<br>- Declaración CE de Conformidad<br>- Ευρωπαϊκή συμφωνία   |
|    | - 96 determinazioni<br>- 96 tests<br>- 96 Bestimmungen<br>- 96 Testes   | - 96 tests<br>- 96 pruebas<br>- 96 προσδιορισμοί  |
|    | - Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso<br>- Voir les instructions d'utilisation électronique<br>- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten<br>- Seguir as instruções electrónicas de utilização | - See electronic instructions for use<br>- Sigla las instrucciones electrónicas de uso<br>- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
|    | - Da utilizzarsi entro<br>- Utilise avant le<br>- Verwendbar bis<br>- Utilizar antes de   | - Use by<br>- Utilizar antes de<br>- Χρήση μέχρι  |
|   | - Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)  | - Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)                           |
|  | - Prodotto da<br>- Fabriqué par<br>- Hergestellt von<br>- Fabricado por   | - Manufactured by<br>- Fabricado por<br>- Κατασκευάζεται από  |
|  | - Calibratore cut-off<br>- Etalon Seuil<br>- Grenzwert Kalibrator<br>- Calibrador de cut-off  | - Cut off Calibrator<br>- Calibrador de cut-off<br>- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης  |
|  | - Controllo positivo<br>- Contrôle Positif<br>- Positiv Kontrolle<br>- Controllo positivo   | - Positive Control<br>- Control Positivo<br>- Θετικός ορός ελέγχου  |
|  | - Controllo negativo<br>- Contrôle Négatif<br>- Negativ Kontrolle<br>- Controllo negativo   | - Negative Control<br>- Control Negativo<br>- Αρνητικός ορός ελέγχου  |
|  | - Calibratore<br>- Etalon<br>- Kalibrator<br>- Calibrador   | - Calibrator<br>- Calibrador<br>- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης  |
|  | - Coniugato<br>- Conjugé<br>- Konjugat<br>- Conjugado   | - Conjugate<br>- Conjugado<br>- Σύζευγμα  |
|  | - Micropiastro rivestita<br>- Microplaque sensibilisée<br>- Beschichtete Mikrotiterplatte<br>- Microplaca revestida   | - Coated microtiter plate<br>- Microplaca sensibilizada<br>- Επικαλυμμένη μικροπλάκα  |
|  | - Tampone di lavaggio<br>- Tampon de Lavage<br>- Waschpuffer<br>- Solução de lavagem  | - Wash buffer<br>- Solución de lavado<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης  |
|  | - Tampone substrato<br>- Substrat<br>- Substratpuffer<br>- Substrato  | - Substrate buffer<br>- Tampón sustrato<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος  |
|  | - Reagente bloccante<br>- Solution d'Arrêt<br>- Stopreagenz<br>- Solução de paragem   | - Stop solution<br>- Solución de parada<br>- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης  |
|  | - Tampone campione<br>- Tampon Echantillons<br>- Probenpuffer<br>- Diluente de amostra  | - Sample buffer<br>- Tampón Muestras<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων  |