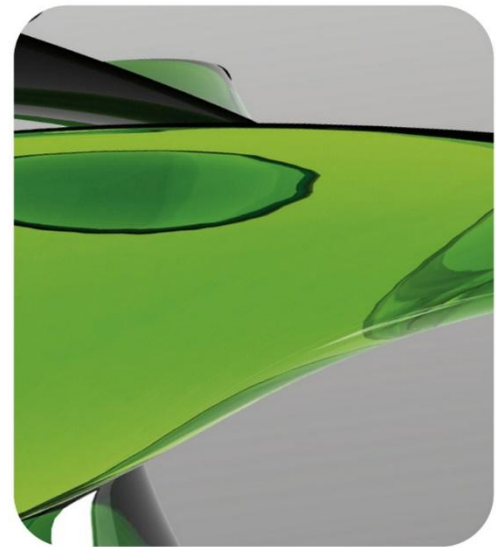




**AESKU**.DIAGNOSTICS  
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



**AESKULISA<sup>®</sup>**

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# INSTRUCTION MANUAL

**AESKULISA<sup>®</sup> Sclero-Pro**

Ref 3121







Product Ref.	3121
Product Desc.	Sclero-Pro
Manual Rev. No.	004 : 2024-12-11

## 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	ποιοτική ερμηνεία.....	7
9	Τεχνικά στοιχεία .....	8
10	Στοιχεία Απόδοσης .....	8
11	Βιβλιογραφία.....	9
12	Ρυθμιστικά σύμβολα .....	10



## 1 Ενδειγμένη χρήση

**AESKULISA® Sclero-Pro** είναι μία Ενζυμοανοσολογική μέθοδος στερεής φάσης που επιτρέπει τον απλό ποιοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων της υποομάδας IgG, τα οποία τάσσονται έναντι οκτώ κυτταρικών και πυρηνικών αντιγόνων στον ανθρώπινο ορό. Οι υποδοχείς είναι επικαλυμμένοι ξεχωριστά με τις ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες 100 kDa PM-Scl, 70 kDa U1-snRNP, SS-B, SS-A 52 kDa, SS-A 60 kDa, Scl 70, Centromer-Protein B (CenpB), Jo-1 και με την υψηλής καθαρότητας φυσική ανθρώπινη πρωτεΐνη Sm. Η δοκιμασία εξυπηρετεί στη διαφοροδιάγνωση των συστηματικών ρευματικών παθήσεων.

## 2 Κλινική εφαρμογή και αρχές της μεθόδου

Η διαπίστωση αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA) στον ορό παίζει αποφασιστικό ρόλο στη διαφοροδιάγνωση των συστηματικών ρευματικών παθήσεων. 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 σύμφωνα με την ειδικότητά τους. Τα ANA εμφανίζονται στον ενεργό και μη ενεργό συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο (ΣΕΛ), σε μικτές νόσους του συνδετικού ιστού (MCTD), τη σκληροδερμία, την πολυμυοσίτιδα και σε άλλες ασθένειες.

### Τα αντισώματα έναντι:

- PM-Scl (Polymyositis Scleroderma antigen; 100 kDa) τάσσονται ενάντια μίας πρωτεΐνης 100 kDa, η οποία είναι συστατικό στοιχείο ενός πυρηνικού πολυπρωτεϊνικού συμπλέγματος που αποτελείται από 11 πρωτεΐνες. Τα αντί-PM-Scl αντισώματα είναι δυνατό να διαπιστωθούν σε ασθενείς που πάσχουν από νόσους του συνδετικού ιστού και προσδιορίζουν την ύπαρξη ενός συνδρόμου επικάλυψης πολυμυοσίτιδας – σκληροδερμίας.

·U1snRNP συνδέονται με την πρωτεΐνη 70 kDa του U1 snRNP. Είναι παθολογικά για τις μικτές νόσους του συνδετικού ιστού και υψηλοί τίτλοι αυτών είναι χαρακτηριστικοί για το σύνδρομο Sharp.

·Sm (Smith antigen), τάσσονται ενάντια κεντρικών πρωτεϊνών (B, B', D1-D3, E, F, G), μικρών πυρηνικών ριβονουκλεοπρωτεϊνών (snRNPs). Τα αντί-Sm παρουσιάζουν όπως και τα αντισώματα έναντι του δίκλωνου DNA (dsDNA) υψηλή ειδικότητα για τον ΣΕΛ και αποτελούν έτσι ένα από τα κριτήρια διάγνωσης του ΣΕΛ.

·SS-A (Ro) και αντισώματα έναντι SS-B (La), υψηλοί τίτλοι ανευρίσκονται συνήθως στο πρωτοπαθές και δευτεροπαθές σύνδρομο Sjögren, εμφανίζονται όμως και στο ΣΕΛ, στο συγγενή καρδιακό αποκλεισμό και στο νεογνικό λύκο.

·CenpB (80kDa κεντρομεριδιακή πρωτεΐνη B) είναι χαρακτηριστικά για το σύνδρομο CREST (69% των ασθενών που πάσχουν από το σύνδρομο Crest), το οποίο είναι μία μορφή της συστηματικής σκληροδερμίας με ήπια πορεία.

·Scl-70 τάσσονται ενάντια της DNA-Τοποϊσομεράσης I. Έχουν υψηλή ειδικότητα για τη συστηματική σκληροδερμία και υποδεικνύουν μία βαριά πορεία της πάθησης.

·Jo-1 τάσσονται ενάντια της ιστιδυλο-tRNA συνθετάσης (μία κυτταροπλασματική πρωτεΐνη της πρωτεϊνοσύνθεσης). Εμφανίζονται στο 20-40 % των ασθενών που πάσχουν από πολυμυοσίτιδα και δερματομυοσίτιδα.

### 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	2 x 1,8ml	Πράσινο	Διαυγές	Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)
Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης	2 x 1,8ml	Μπλε	Κίτρινο	Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)
Συζεύγματα, IgG	1 x 15ml	Μπλε	Μπλε	Συστατικά στοιχεία: Αντι-ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη σημαδεμένη με υπεροξειδάση από ραφανίδα, αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)
Υπόστρωμα TMB	1 x 15ml	Μαύρο	Διαυγές	Σταθεροποιημένη τετραμεθυλβενζιδίνη και υπεροξειδίο 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>				
<p>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, προχοϊδες ακρίβειας (10, 100, 200, 500, 1000 μl) ή προσαρμοζόμενη πολυπροχοϊδα (100-1000μl). Συσκευή πλύσης μικροπλάκας (300μl επαναλαμβανόμενη προχοϊδα, ή προχοϊδα 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.).</p>				

### 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

**ΑΑΥΤΟ 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 ( $\text{NaN}_3$ ) ως συντηρητικό. Το  $\text{NaN}_3$  μπορεί να είναι τοξικό εάν προληφθεί ή απορροφηθεί από το δέρμα ή τα μάτια. Το  $\text{NaN}_3$  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 προχοΐδα (πιπέττα) δια μέσω του στόματος, φοράτε γάντια μίας χρήσης.**

Τα αντιδραστήρια ανθρώπινης προέλευσης που περιέχονται σε αυτό το προϊόν (οροί ελέγχου και αντιδραστήρια βαθμονόμησης) αποδείχτηκαν κατά τον έλεγχο για ηπατίτιδα Β αντιγόνο επιφάνειας (HbsAg), ηπατίτιδα C και HIV 1 και 2 ως αρνητικά. Όμως, σε προϊόντα ανθρώπινης 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 κιτ 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 κιτ 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 ( $20-32\text{ }^\circ\text{C}$  /  $68-89,6\text{ }^\circ\text{F}$ ) και αναμείξτε καλά. Πρέπει οπωσδήποτε να τηρείται το καθορισμένο πρωτόκολλο για τη διεξαγωγή της δοκιμασίας.

**Επώαση: Συνιστούμε απόδοση δοκιμής στους  $30\text{ }^\circ\text{C}$  /  $86\text{ }^\circ\text{F}$  για αυτοματοποιημένα συστήματα.**

Μην εκθέτετε ποτέ τα συστατικά του συνόλου αντιδραστηρίων σε θερμοκρασίες άνω των  $37\text{ }^\circ\text{C}$  /  $98,6\text{ }^\circ\text{F}$ . 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.

## 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:

Antigen		1	2	3	4...	
U1-70-RNP	A	CC	NC	P1	P2	P3
Sm	B	CC	NC	P1	P2	P3
SS-A	C	CC	NC	P1	P2	P3
SS-B	D	CC	NC	P1	P2	P3
Scl70	E	CC	NC	P1	P2	P3
PmScl	F	CC	NC	P1	P2	P3
CenpB	G	CC	NC	P1	P2	P3
Jo-1	H	CC	NC	P1	P2	P3

NC: negative control


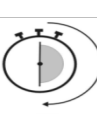
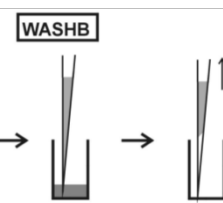
P1: patient 1

CC: cut-off calibrator

P2: patient 2

P3: patient 3



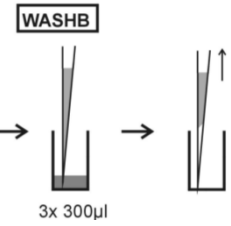
## 7.3 Βήματα εργασίας

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 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> <p>Αντιδραστήριο βαθμονόμησης οριακής τιμής (CC) για <b>ΠΟΙΟΤΙΚΗ</b> ερμηνεία.</p> <p>Επίσης, βάζετε από 100 μl από καθένα από τα παρακάτω:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Αρνητικός ορός ελέγχου (NC)</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>

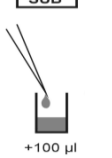
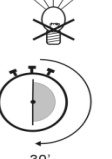


Product Ref.	3121
Product Desc.	Sclero-Pro
Manual Rev. No.	004: 2024-12-11

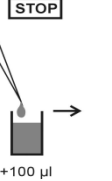
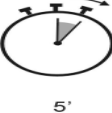

#### ΣΥΖΕΥΓΜΑ

6.	 <p><b>CONJ</b> +100 µl</p>	Βάζετε 100 µl διαλύματος συζεύγματος σε κάθε υποδοχέα χρησιμοποιώντας πιπέτα.
7.	 <p>30'</p>	Επώάζετε για 30 λεπτά σε 20-32 °C / 68-89,6 °F.
8.	 <p><b>WASHB</b> 3x 300µl</p>	Πλένετε 3 φορές, κάθε φορά με 300 µl ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (αραιωμένο 1:50).

#### ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ

9.	 <p><b>SUB</b> +100 µl</p>	Βάζετε 100 µl διαλύματος υποστρώματος TMB σε κάθε υποδοχέα χρησιμοποιώντας την πιπέτα.
10.	 <p>30'</p>	Επώάζετε για 30 λεπτά σε 20-32 °C / 68-89,6 °F. Προστατεύστε από το έντονο φως.

#### ΔΙΑΛΥΜΑ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ

11.	 <p><b>STOP</b> +100 µl</p>	Βάζετε 100 µl διαλύματος διακοπής αντίδρασης σε κάθε βύθισμα με τη σειρά που τοποθετήθηκε το υπόστρωμα χρησιμοποιώντας την πιπέτα.
12.	 <p>5'</p>	Επώάζετε για 5 λεπτά τουλάχιστον.
13.		Ανακινείτε προσεκτικά την πλάκα για 5 δευτερόλεπτα.
14.	 <p>OD - OD 450 620</p> <p>450/620 nm</p>	Μετρήστε την απορρόφηση στα 450 nm εντός 30 λεπτών (συνιστάται προαιρετικά και στα 450/620 nm).

## 8 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ο προσδιορισμός επιτυγχάνεται βάσει της σύγκρισης της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων των ασθενών με την οπτική πυκνότητα των υπολογισμένων ειδικών παραμέτρων του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης. Για τον υπολογισμό των μεμονωμένων ειδικών παραμέτρων του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης προβείτε στα εξής: Πολλαπλασιάστε το αποτέλεσμα του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης με τον παράγοντα για την εκάστοτε παράμετρο. Τον παράγοντα αυτό θα το βρείτε στο συναπτόμενο πιστοποιητικό QC. 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.

Sclero-Pro	O.D. 450/620 nm
Αρνητικός έλεγχος	0,033
Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης	0,550

### Παράδειγμα προσδιορισμού

Ο σχεδιασμός της καμπύλης συνιστάται για κάθε νέα δοκιμασία.

<b>Πιστοποιητικό ποιοτικού ελέγχου:</b>	Jo-1 Παράγοντας :		<b>0,95</b>
<b>Μετρημένη συγκέντρωση:</b>	Οπτική πυκνότητα (OD) αντιδραστηρίου βαθμονόμησης οριακής τιμής (Jo-1)		<b>0,550</b>
<b>Υπολογισμός:</b>	Οπτική πυκνότητα (OD) παραμέτρου οριακής τιμής (Jo-1)	0,550 x 0,95=	<b>0,5225</b>
Θετικό:	OD ασθενή < 0,8 x OD Παράμετρος cut-off	= 0,8 x 0,5225	=0,418
Αρνητικό:	OD ασθενή > 1,2 x OD Παράμετρος cut-off	= 1,2 x 0,5225	=0,627
Απροσδιόριστα:	0,418 ≤ OD ασθενή		≤ 0,627

Αριθμ. Δείγματος	δείγματος του ασθενή	OD-υπολογισμός	ερμηνεία
	OD Jo-1		
1	0,99	> 0,627	--->Αρνητικό
2	0,49	≥ 0,418 und ≤ 0,627	---> Απροσδιόριστα
3	0,27	< 0,418	--->Θετικό

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

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 E.E..

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.

Η δημιουργία ενός πηλίκου OD επιτρέπει πρόσθετα έναν ημιποσοτικό προσδιορισμό των αποτελεσμάτων. Για να συμβεί αυτό, διαιρείται η οπτική πυκνότητα του δείγματος του ασθενή δια της παραμέτρου.

Πηλίκo OD =  $\frac{\text{OD (δείγμα ασθενή)}}{\text{OD (Παράμετρος cut-off)}}$

Αρνητικό:	Πηλίκo	< 0,8
Απροσδιόριστα: 0,8 ≤	Πηλίκo	≤ 1,2
Θετικό:	Πηλίκo	> 1,2

## 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
Φύλαξη:	σε 2-8 °C / 35,6-46,4 °F στις αυθεντικές φιάλες
Αριθμός των προσδιορισμών:	96 δοκιμασίες

## 10 Στοιχεία Απόδοσης

### 10.1 Ειδικότητα και Ευαισθησία

Η στερεή φάση είναι επικαλυμμένη με υψηλής καθαρότητας και/ ή ανασυνδυασμένα αντιγόνα (100 kDa PM-Scl, 70 kDa U1-snRNP, SS-B, SS-A 52 kDa, SS-A 60 kDa, Scl 70, κεντρομεριδιακή πρωτεΐνη B (CenpB), Jo-1 και Sm). Δε διαπιστώνονται αντιδραστικότητες διασταύρωσης με άλλα αντιγόνα.

Για το λόγο ότι στο Sclero Pro γίνονται επικαλύψεις με διάφορα αντιγόνα, οι τιμές τους αναφέρονται στον πίνακα που ακολουθεί.

	Ευαισθησία
U1-snRNP	100 % σε μικτές παθήσεις του συνδετικού ιστού
SS-A	80 % στο σύνδρομο Sjögren
Scl 70	20-48 % στη συστηματική σκληροδερμία
Jo-1	25 % στην πολυμυοσίτιδα και δερματομυοσίτιδα
CenpB	έως και 80 % στο σύνδρομο CREST
Sm	10-30 % στο ΣΕΛ
PM-Scl	5-10 % δερματομυοσίτιδα

### 10.2 Γραμμικότητα

Για επιλεγμένους ορούς μπόρεσε να εξακριβωθεί μία γραμμική συνάρτηση μεταξύ της διάλυσης και της συγκέντρωσης των αντισωμάτων σε αυτή τη δοκιμασία. Λόγω των ετερογενών ανθρώπινων αντισωμάτων όμως, δεν είναι δυνατό να αποκλειστεί το γεγονός ότι μεμονωμένοι οροί παρουσιάζουν μη γραμμική συμπεριφορά.

Αριθμ. Δείγματος	Αραιώση	μετρημένη συγκέντρωση (Πηλίκo OD)	αναμενόμενη συγκέντρωση (Πηλίκo OD)	Ανάκτηση (%)
1	1 / 100	4,4	4,5	97,8
	1 / 200	2,4	2,3	104,3
	1 / 400	1,2	1,2	100,0
	1 / 800	0,6	0,6	100,0
2	1 / 100	3,7	3,8	97,4
	1 / 200	1,8	1,9	94,7
	1 / 400	0,95	1,0	95,0
	1 / 800	0,55	0,5	110,0

### 10.3 Ακρίβεια

Για τον έλεγχο ακρίβειας της μεθόδου εξακριβώθηκε με τρεις ορούς σε διαφορετικές περιοχές της πρότυπης καμπύλης η εσωτερική και ενδιάμεση διακύμανση.

Εσωτερική μέθοδος		
Sclero-Pro	Μέσος όρος Πηλίκο OD	CV (%)
RNP-70	1,5	0,5
Sm	2,1	0,9
SSA 52/60	1,8	1,1
SSB	3,2	0,7
Sci-70	3,5	0,5
PMScl	1,9	0,9
CenpB	2,6	1,5
Jo-1	3,4	1,6

Ενδιάμεση μέθοδος		
Sclero-Pro	Μέσος όρος Πηλίκο OD	CV (%)
RNP-70	1,5	0,5
Sm	2,6	0,9
SSA 52/60	3,1	1,5
SSB	2,5	1,5
Sci-70	1,9	1,4
PMScl	3,6	0,6
CenpB	2,2	2,0
Jo-1	1,9	1,7

### 10.4 Διακρίβωση

Το **AESKULISA® Sclero-Pro** έχει διακριβωθεί έναντι ενός ορού αναφοράς του CDC Atlanta (Centers for Disease Control and Prevention).

## 11 Βιβλιογραφία

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



















**Froelich CH, Wallmann H, Skosey JL and Teodorescu M.** Clinical value of an integrated ELISA system for the detection of 6 autoantibodies. The Journal of Rheumatology 1990; 17 (2): 192-200.

**Mierau R, Genth E.** Autoantikörper bei systemischem Lupus erythematodes und verwandten Erkrankungen In: Thomas L. (Hrsg.) Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 1998, 5. Auflage: 843-851.

**Schmolke M, Oppermann M, Helmke K, Guder WG.** Antibody determination against ENA- a challenge for the routine laboratory. Poster P59, 5 th Dresden Symposium on Autoantibodies, 2000.

**Tan EM, (1989).** Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. Adv. Immunol 44: 93-151.

## 12 Ρυθμιστικά σύμβολα

	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnóstico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnóstico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Numero d'ordine - Référence Catalogue - Bestellnummer - Número de catálogo	- Catalogue number - Numéro de catálogo - Αριθμός παραγγελίας
	- Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote	- Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Identificatore univoco del dispositivo - Identifiant unique de l'appareil - eindeutige Produktidentifizierung - Identificador único do dispositivo	- Unique Device Identifier - Identificador único del dispositivo - Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Conformità europea - Déclaration CE de Conformité - Europäische Konformität - Declaração CE de Conformidade	- EC Declaration of Conformity - Declaración CE de Conformidad - Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- 96 determinazioni - 96 tests - 96 Bestimmungen - 96 Testes	- 96 tests - 96 pruebas - 96 προσδιορισμοί
	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso - Voir les instructions d'utilisation électronique - Elektronische Gebrauchsanweisung beachten - Seguir as instruções electrónicas de utilização	- See electronic instructions for use - Siga las instrucciones electrónicas de uso - Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Da utilizzarsi entro - Utilise avant le - Verwendbar bis - Utilizar antes de	- Use by - Utilizar antes de - Χρήση μέχρι
	- Conservare a 2-8°C (35,6-46,4°F) - Conserver à 2-8°C (35,6-46,4°F) - Lagerung bei 2-8°C (35,6-46,4°F) - Conservar entre 2-8°C (35,6-46,4°F)	- Store at 2-8°C (35,6-46,4°F) - Conservar a 2-8°C (35,6-46,4°F) - Φυλάσσεται στους 2-8°C (35,6-46,4°F)
	- Prodotto da - Fabriqué par - Hergestellt von - Fabricado por	- Manufactured by - Fabricado por - Κατασκευάζεται από
	- Calibratore cut-off - Etalon Seuil - Grenzwert Kalibrator - Calibrador de cut-off	- Cut off Calibrator - Calibrador de cut-off - Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Controllo negativo - Contrôle Négatif - Negativ Kontrolle - Controllo negativo	- Negative Control - Control Negativo - Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Coniugato - Conjugé - Konjugat - Conjugado	- Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα
	- Micropiastra rivestita - Microplaque sensibilisée - Beschichtete Mikrotiterplatte - Microplaca revestida	- Coated microtiter plate - Microplaca sensibilizada - Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Tampone di lavaggio - Tampon de Lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem	- Wash buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Tampone substrato - Substrat - Substratpuffer - Substrato	- Substrate buffer - Tampón sustrato - Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Reagente bloccante - Solution d'Arrêt - Stopreagenz - Solução de paragem	- Stop solution - Solución de parada - Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Tampone campione - Tampon Echantillons - Probenpuffer - Diluente de amostra	- Sample buffer - Tampón Muestras - Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων