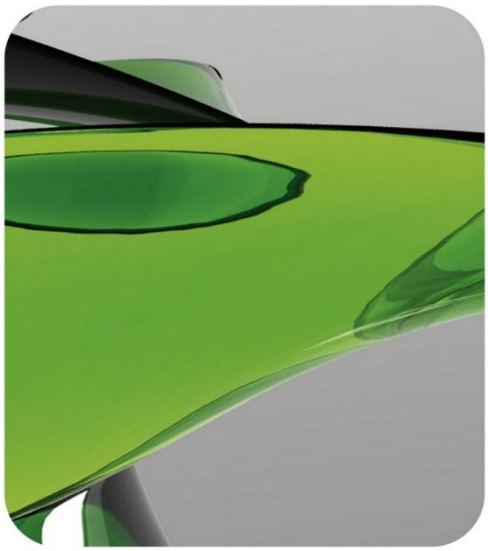
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® ANA-8S

Ref 3100

CE | Σ 96 | 2°C–8°C | IVD | eIFU WWW.AESKU.COM

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 Διάθεση 9
12 Βιβλιογραφία 9
13 Ρυθμιστικά σύμβολα 10

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Phone: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Ενδεδειγμένη χρήση

***AESKULISA®* ANA-8S** είναι μία Ενζυμοανοσολογική μέθοδος στερεής φάσης που επιτρέπει τον ολικό ποιοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων της υποομάδας IgG, τα οποία τάσσονται έναντι οκτώ κυτταρικών και πυρηνικών αντιγόνων στον ανθρώπινο ορό. Κάθε υποδοχέας είναι επικαλυμμένος με τις ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες 70 kDa U1 snRNP, SS-B, SS-A 52 kDa, Scl 70, κεντρομεριδιακή πρωτεΐνη B (CenpB), Jo-1 και με τις υψηλής καθαρότητας φυσικές ανθρώπινες πρωτεΐνες snRNP/Sm, Sm και SS-A 60 kDa. 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 τον ANA σύμφωνα με την ειδικότητά τους. Τα ANA εμφανίζονται στον ενεργό και μη ενεργό συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ), σε μικτές νόσους του συνδετικού ιστού (MCTD), τη σκληροδερμία, την πολυμυοσίτιδα και σε άλλες ασθένειες.

Τα αντισώματα έναντι:

·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.

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

· το σύμπλοκο snRNP/Sm τάσσεται ενάντια των Sm και των πρωτεϊνών snRNP (70 kDa, A και C). Ανευρίσκεται στο ΣΕΛ, στο σύνδρομο Sjögren, στη σκληροδερμία και στην πολυμυοσίτιδα.

·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 συνδεμένα 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 συνδεμένων 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

ΔΙΑΛΥΟΝΤΑΙ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ				
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)
ΕΤΟΙΜΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ				
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)
Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης	1 x 1,5ml	Μπλε	Κίτρινο	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 υπεροξείδιο του υδρογόνου (TMB/H_2O_2)
Διάλυμα διακοπής αντίδρασης	1 x 15ml	Λευκό	Διαυγές	1M Υδροχλωρικό οξύ
Πλάκα μικροτιτλοποίησης	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				
Απαιτούμενα υλικά:				
Ο αναγνώστης πλακών μικροτιτλοποίησης 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.).				

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 μικοπλάκες 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 (NaN_3) ως συντηρητικό. Το NaN_3 μπορεί να είναι τοξικό εάν προληφθεί ή απορροφηθεί από το δέρμα ή τα μάτια. Το 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 ανατρέξετε 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 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 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 °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 αυτοματοπιημένα 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 φυλάσσετέ 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

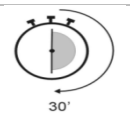
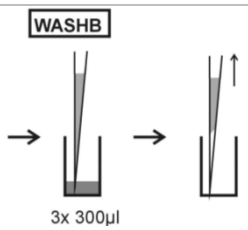
Προτείνουμε τη χρήση της πιπέτας για αντιδραστήρια βαθμονόμησης, ορούς ελέγχου και δείγματα ως εξής:

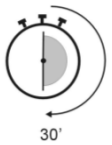
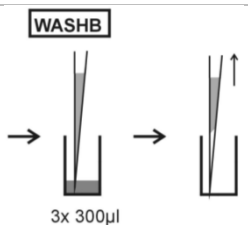
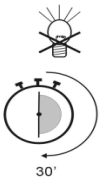
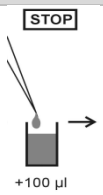
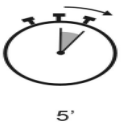
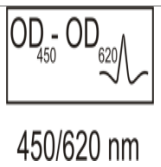
Για ΠΟΙΟΤΙΚΗ ερμηνεία

	1	2	3	4...
A	NC	P2		
B	NC	P2		
C	CC	P3		
D	CC	P3		
E	PC	…		
F	PC	…		
G	P1	…		
H	P1	…		

PC: positiv-Controle P1: Patient 1
NC: negativ-Controle P2: Patient 2
CC: Cut-off Kalibrator 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:
	ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ & ΔΕΙΓΜΑΤΑ
3.	Βάζετε στα προβλεπόμενα βυθίσματα 100 µl από ένα από τα παρακάτω υλικά χρησιμοποιώντας την πιπέτα, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 7.2 παραπάνω: Αντιδραστήριο βαθμονόμησης οριακής τιμής (CC) για *ΠΟΙΟΤΙΚΗ* ερμηνεία Επίσης, βάζετε από 100 µl από καθένα από τα παρακάτω: • Αρνητικός ορός ελέγχου (NC) και θετικός ορός ελέγχου (PC) καθώς και • Διαλυμένο ορό ασθενών (P1, P2...)
4.	 Επωάζετε για 30 λεπτά σε 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
5.	 Πλένετε 3 φορές, κάθε φορά με 300 µl ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (αραιωμένο 1:50).

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

8 ποιοτική ερμηνεία

Ο **προσδιορισμός επιτυγχάνεται** βάσει της σύγκρισης της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων των ασθενών με την οπτική πυκνότητα του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης. Σε περίπτωση που η οπτική πυκνότητα του δείγματος του ασθενή είναι υψηλότερη από εκείνη του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης, τότε αυτή χαρακτηρίζεται ως θετική, αν είναι χαμηλότερη, είναι αρνητική. 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. Ολα τα δείγματα με υψηλότερες τιμές θεωρούνται θετικά, δείγματα με χαμηλότερες τιμές αρνητικά.

Αρνητικό: $OD_{\text{ασθενή}} < 0.8 \times OD_{\text{cut-off}}$

Απροσδιόριστα: $0.8 \times OD_{\text{cut-off}} \leq OD_{\text{ασθενή}} \leq 1.2 \times OD_{\text{cut-off}}$

Θετικό: $OD_{\text{ασθενή}} > 1.2 \times OD_{\text{cut-off}}$

Διακριβωτές	OD 450/620 nm.	CV %
Αρνητικός Έλεγχος	0.047	2.6
Οριακός ορός Αντιδραστήριοβαθμονόμησης	0.350	1.8
Θετικός Έλεγχο	1.259	0.7

Παράδειγμα προσδιορισμού

Συνιστάται η εκ νέου εισαγωγή του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας την προχοΐδα για κάθε δοκιμασία.

Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης	Δείγμα ασθενή	Πηλίκο OD	Ερμηνεία
0,35 OD	0,25 OD	0,75	αρνητικό
0,35 OD	0,40 OD	1,14	Απροσδιόριστα
0,35 OD	0,56 OD	1,60	θετικό
0,35 OD	1,75 OD	5,00	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 ποιότητος 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 κιτ 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 οπτικής πυκνότητας του Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης (Cut-off).

$$\textbf{Πηλίκο} = \frac{\textbf{OD (δείγμα ασθενή)}}{\textbf{OD (Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης)}}$$

Αρνητικό:		**Πηλίκο OD**	**< 0.8**
Απροσδιόριστα:	**0.8≤**	**Πηλίκο OD**	**≤ 1.2**
Θετικό:		**Πηλίκο OD**	**>1.2**

9 Τεχνικά στοιχεία

Υλικό δειγμάτων:	Ορός
Όγκος δειγμάτων:	10 µl ορός για αραίωση 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 Εύρος φυσιολογικών τιμών

Οροί αίματος υγιών δοτών υποβλήθηκαν στην ανοσολογική δοκιμασία ***AESKULISA®* ANA-8S** και από τα αποτελέσματα προέκυψε η ακόλουθη κατανομή:

Αριθμός δειγμάτων	αρνητικά	οριακά	θετικά
80	73 (91,3 %)	0 (0 %)	7 (8,8 %)

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®* ANA-8S**, REF 3100 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 Πηλίκο OD	CV	Μέσος όρος Πηλίκο OD	CV	Μέσος όρος Πηλίκο OD	CV
Δείγμα 1	0,76	8,3%	0,76	8,8%	0,78	4,8%
Δείγμα 2	1,16	9,6%	1,16	13,8%	1,17	4,4%
Δείγμα 3	2,34	4,6%	2,34	4,8%	2,30	5,4%
Δείγμα 4	4,20	2,7%	4,20	3,1%	4,22	3,6%
Δείγμα 5	6,05	1,1%	6,05	2,3%	6,30	3,5%

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®* ANA-8S**, REF 3100 έχει καθοριστεί ένα **όριο ανίχνευσης 0,1 Πηλίκο OD**.

10.4 Διακρίβωση

Το ***AESKULISA®* ANA-8S** έχει διακριβωθεί έναντι ενός ορού αναφοράς του CDC Atlanta (Centers for Disease Control and Prevention).

11 Διάθεση

Παρακολουθήστε τις σχετικές κανονιστικές απαιτήσεις!

12 Βιβλιογραφία

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

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

Mierau R, Genth E (1998) Autoantikörper bei systemischem Lupus erythematodes und verwandten Erkrankungen In: Thomas L. (Hrsg.) Labor und Diagnose TH-Books, Frankfurt, 15. 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.

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

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
eIFU WWW.AESKU.COM	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	