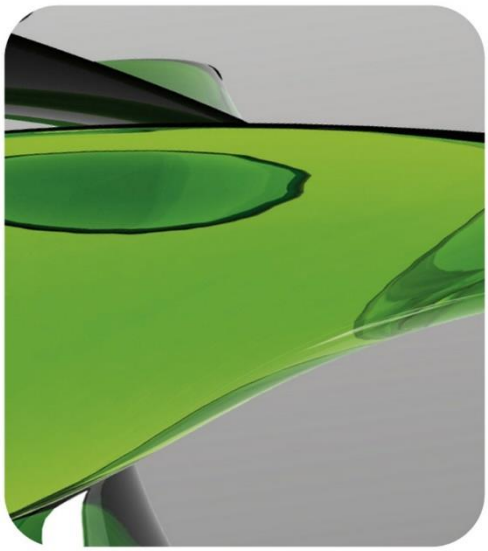
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



# AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# INSTRUCTION MANUAL

## *AESKULISA®* APS-Profile-GM

*Ref 3234*

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 Βιβλιογραφία ..... 9
12 Ρυθμιστικά σύμβολα ..... 10



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

# 1 Ενδεδειγμένη χρήση

***AESKULISA®* APS-Profile-GM** είναι μία Ενζυμοανοσολογική μέθοδος στερεής φάσης για τον ποιοτικό απλό προσδιορισμό των IgG/ IgM αντισωμάτων στον ανθρώπινο ορό έναντι φωσφολιπιδίων. Η δοκιμασία περιέχει ως αντιγόνα: υψηλής καθαρότητας ανθρώπινη προθρομβίνη (παράγοντας ΙΙ), θρομβίνη και καρδιολιπίνη και καρδιολιπίνη και φωσφατιδύλο- χολίνη, -αιθανολαμίνη, -ινοσιτόλη – σερίνη και σφιγγομυελίνη.
Ο προσδιορισμός αυτών των αντισωμάτων εξυπηρετεί στο να τεθεί η διάγνωση και να εκτιμηθεί ο κίνδυνος θρομβώσεως σε ασθενείς πάσχοντες από συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ).

# 2 Κλινική εφαρμογή και αρχές της μεθόδου

Τα αντισώματα έναντι των φωσφολιπιδίων, συστατικά στοιχεία βιολογικών μεμβρανών, τάσσονται ειδικά ενάντια σε φωσφολιπίδια όπως είναι η καρδιολιπίνη, η φωσφατιδυλο-ινοσιτόλη,-αιθανολαμίνη, -χολίνη, η σφιγγομυελίνη.
Η εμφάνιση αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων περιγράφεται συχνά στο συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και σε άλλες παρόμοιες ασθένειες.
Την εμφάνιση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε αυτές τις ασθένειες, τη χαρακτηρίζουμε ως δευτεροπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (ΑΦΣ). Αντιθέτως, το πρωτοπαθές ΑΦΣ χαρακτηρίζεται από αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα χωρίς τη συμμετοχή άλλων αυτοάνοσων παθήσεων. Εξετάσεις έδειξαν, ότι υπάρχει στενός συσχετισμός μεταξύ θρομβώσεων, θρομβοκυτταροπενιών και συνήθεις αποβολών (ως συνέπεια πλακουντιακού εμφράκτου). Ο ρόλος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στην εξέλιξη της θρόμβωσης, δεν έχει ακόμη ξεκαθαριστεί πλήρως.

Πρόσφατα περιγράφηκε, ότι η ύπαρξη αντισωμάτων έναντι της προθρομβίνης μόνο, συσχετίζεται έντονα με την εμφάνιση αποβολών εμβρύων στο ΑΦΣ. Οπότε τα αντισώματα έναντι της προθρομβίνης αποτελούν τον πρώτο δείκτη για αυτήν την επιπλοκή του ΑΦΣ, εφόσον όλα τα άλλα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα δε σχετίζονται με αποβολές εμβρύων.

Η εμφάνιση αντισωμάτων έναντι της θρομβίνης συσχετίζεται με τις κλινικές ιδιότητες του λεγόμενου αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (ΑΦΣ). Τα αντι-θρομβινικά αντισώματα φαίνεται να σχετίζονται με τις εν τω βάθει φλεβικές θρομβώσεις.

**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<br>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<br>Tris, NaCl, Tween 20, οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό) |
| ***ΕΤΟΙΜΑ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ*** | | | | |
| 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 | 8 x 1,5ml | Μπλε | Κίτρινο | αντιγόνου-ειδικά, Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), αλβουμίνη βόειου ορού (BSA), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό) |
| Συζεύγματα, IgG<br>IgM | 1 x 15ml<br>1 x 15ml | Μπλε<br>Πράσινο | Μπλε<br>Πράσινο | Συστατικό στοιχείο: Αντι – ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη σημαδεμένη με υπεροξειδάση από ραφανίδα |
| 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 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 °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.

# 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

Συνιστούμε να πιπετάρετε τα αντιδραστήρια βαθμονόμησης, τους ορούς ελέγχου και τα δείγματα ως εξής:

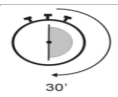
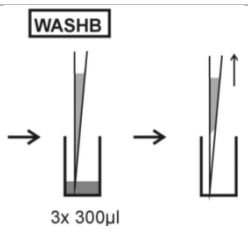
**ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Σε περίπτωση που πρόκειται να προσδιοριστούν διάφορες κατηγορίες αντισωμάτων (IgG και IgM) παράλληλα, τα αντιδραστήρια βαθμονόμησης, οι οροί ελέγχου και τα δείγματα πρέπει να πιπετάρονται χωριστά για κάθε κατηγορία αντισωμάτων.**

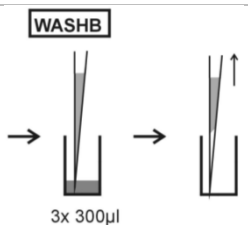
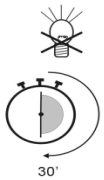
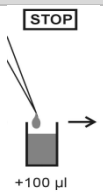
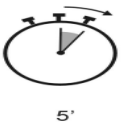
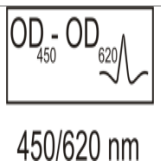
| αντιγόνο | | 1 | 2 | 3 | 4... | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| προθρομβίνης | A | CCA | NC | P1 | P2 | P3 |
| Η θρομβίνη | B | CCB | NC | P1 | P2 | P3 |
| καρδιολιπίνης | C | CCC | NC | P1 | P2 | P3 |
| Φωσφατιδυλχολίνη | D | CCD | NC | P1 | P2 | P3 |
| Αιθανολαμινών Φωσφατιδυλ | E | CCE | NC | P1 | P2 | P3 |
| Φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη | F | CCF | NC | P1 | P2 | P3 |
| Φωσφατιδυλοσερίνη | G | CCG | NC | P1 | P2 | P3 |
| σφιγγομυελίνη | H | CCH | NC | P1 | P2 | P3 |

NC: negative calibrator
CCA-CCH: cut-off calibrator A-H

P1: patient 1
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/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:<br>Αντιδραστήριο βαθμονόμησης οριακής τιμής για *ΠΟΙΟΤΙΚΗ* ερμηνεία. (CCA – CCH)<br>Επίσης, βάζετε από 100 µl από καθένα από τα παρακάτω:<br>• Αρνητικός ορός ελέγχου (NC) 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 των υπολογισμένων παραμέτρων Cut-off A-H. Για τον υπολογισμό, προβείτε ως εξής. 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.

| APS Profile | O.D. 450/620 nm |
|---|---|
| Αρνητικός έλεγχος | 0,033 |
| Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης | 0,5225 |

**Παράδειγμα προσδιορισμού**

Ο σχεδιασμός της καμπύλης συνιστάται για κάθε νέα δοκιμασία.

**μετρημένη:** OD Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης (καρδιολιπίνη): **0,5225**

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Αρνητικό: | $OD_{ασθενή}$ | < 0,8 x $OD_{Παράμετρος\ cut\text{-}off}$ | = 0,8 x 0,5225 | =0.418 |
| Θετικό: | $OD_{ασθενή}$ | > 1,2 x $OD_{Παράμετρος\ cut\text{-}off}$ | = 1,2 x 0,5225 | =0.627 |
| Απροσδιόριστα: | 0.418 ≤ | $OD_{ασθενή}$ | | ≤ 0,627 |

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

***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 παραμέτρου.

$$\textbf{Πηλίκο OD} = \frac{\textbf{OD (δείγμα ασθενή)}}{\textbf{OD (Παράμετρος cut-off)}}$$

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Αρνητικό:** | | **Πηλίκο** | **< 0,8** |
| **Απροσδιόριστα:** | **0,8≤** | **Πηλίκο** | **≤ 1,2** |
| **Θετικό:** | | **Πηλίκο** | **>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 Ειδικότητα και Ευαισθησία

Η πλάκα μικροτιτλοποίησης είναι επικαλυμμένη με προθρομβίνη, θρομβίνη και καρδιολιπίνη, φωσφατιδύλο-χολίνη, -αιθανολαμίνη, -ινοσιτόλη, -σερίνη και σφιγγομυελίνη. Δε διαπιστώνονται αντιδραστικότητες διασταύρωσης με άλλα αντιγόνα. Μέχρι και 50% των εγκύων γυναικών που πάσχουν από ΑΦΣ υπόκεινται μία αποβολή εμβρύου. Το Prothrombin αναγνωρίζει το 84% αυτών των γυναικών. Εφόσον το ***AESKULISA®*** **APS-Profile-GM** είναι επικαλυμμένο με διάφορα αντιγόνα, οι τιμές τους, εφόσον είναι γνωστές αποδίδονται εδώ με τη μορφή ενός πίνακα (IgG).

| | Ευαισθησία | Ειδικότητα |
|---|---|---|
| καρδιολιπίνη | 67% | 73% |
| Φωσφατιδυλοσερίνη | 62% | 83% |
| σφατιδυλοϊνοσιτόλη | 69% | 75% |
| Φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη | 62% | 78% |
| Φωσφατιδυλοχολίνη | 62% | 79% |

## 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 | Αραίωση | μετρημένη συγκέντρωση Μέσος όρος πηλίκο OD | αναμενόμενη συγκέντρωση Μέσος όρος πηλίκο OD | Ανάκτηση (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 / 100 | 7,40 | 7,50 | 98,7 |
| | 1 / 200 | 3,50 | 3,75 | 93,3 |
| | 1 / 400 | 1,75 | 1,88 | 93,1 |
| | 1 / 800 | 0,88 | 0,94 | 93,6 |
| 2 | 1 / 100 | 3,60 | 3,50 | 102,9 |
| | 1 / 200 | 1,71 | 1,75 | 97,7 |
| | 1 / 400 | 0,85 | 0,88 | 96,6 |
| | 1 / 800 | 0,43 | 0,44 | 97,7 |

## 10.3 Ακρίβεια

Για επιλεγμένους ορούς μπόρεσε να εξακριβωθεί μία γραμμική συνάρτηση μεταξύ της αραίωσης 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.

| Εσωτερική μέθοδος | | |
|---|---|---|
| **APS Profile** | **Εσωτερική μέθοδος Μέσος όρος πηλίκο OD** | **CV (%)** |
| προθρομβίνης | 2,4 | 3,1 |
| Η θρομβίνη | 1,8 | 2,8 |
| καρδιολιπίνης | 1,5 | 1,5 |
| Φωσφατιδυλχολίνη | 3,2 | 1,6 |
| Αιθανολαμινών Φωσφατιδυλ | 3,5 | 1,9 |
| Φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη | 3,1 | 2,2 |
| Φωσφατιδυλοσερίνη | 2,6 | 2,9 |
| σφιγγομυελίνη | 2,1 | 3,1 |

| Ενδιάμεση μέθοδος | | |
|---|---|---|
| **APS Profile** | **Εσωτερική μέθοδος Μέσος όρος πηλίκο OD** | **CV (%)** |
| προθρομβίνης | 2,8 | 2,8 |
| Η θρομβίνη | 1,5 | 3,1 |
| καρδιολιπίνης | 1,3 | 3,6 |
| Φωσφατιδυλχολίνη | 2,6 | 2,1 |
| Αιθανολαμινών Φωσφατιδυλ | 2,9 | 3,5 |
| Φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη | 4,1 | 2,6 |
| Φωσφατιδυλοσερίνη | 3,8 | 1,5 |
| σφιγγομυελίνη | 3,6 | 2,4 |

# 11 Βιβλιογραφία

**Boey, M.L., Colaco, C.B., Gharavi, A.E., et al. (1983)**: Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. Br. Med. J. 287: 1021-1023.

**Gastineau, D.A., Kazmier, F.J., Nichols, W.L., Bowie, E.J. (1985)**: Lupus anticoagulant: an analysis of the clinical and laboratory features of 219 cases. Am. J. Hematol. 19: 265-267.

**McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Kirilis SA (1990)**: Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: ß2-Glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc Natl Acad Sci USA 87: 4120-4124.

**Wöhrle R, Matthias T, von Landenberg P, Oppermann M, Helmke K, Förger F (2000)**: Clinical relevance of antibodies against different phospholipids. Journal of Autoimmunity 15: A60.

**Wöhrle R, Matthias T, von Landenberg P, Oppermann M, Förger F, Helmke K (2000)**: A new anti.phospholipid-antibody ELISA - sensitivity and specificity for cerebrovascular insults in autoimmune diseases. Journal of Autoimmunity Vol 15: A 60.

# 12 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 | |
| +8°C +2°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 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 | |