




	<h1>ZENIT RA PR3</h1>	Διανέμεται από την 
ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ	   50	

## ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Η δοκιμασία *ZENIT RA PR3* είναι μια δοκιμασία ανοσολογικής χημειοφωταύγειας (CLIA) για τον ποσοτικό προσδιορισμό, με τον αποκλειστικό αναλυτή *ZENIT RA Analyzer*, των ειδικών αντισωμάτων τάξης IgG που κατευθύνονται έναντι της πρωτεΐνης 3 (PR3) σε δείγματα ορού ή ανθρώπινου πλάσματος (EDTA, ηπαρίνη).

Αυτός ο προσδιορισμός χρησιμοποιείται ως βοήθημα για τη διάγνωση πρωτοπαθών συστηματικών αγγειίτιδων σχετιζόμενων με ANCA, ιδιαιτέρως της κοκκιωματώσης του Wegener (GW).

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Οποιαδήποτε ιατρική απόφαση δεν μπορεί να βασίζεται στο αποτέλεσμα αυτής της δοκιμασίας μόνο, αλλά πρέπει να βασίζεται στην αξιολόγηση του συνόλου όλων των διαθέσιμων κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων.

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Τα αντισώματα κατά του κυτταροπλάσματος ουδετερόφιλων (ANCA) είναι αυτοαντισώματα που κατευθύνονται έναντι των αντιγόνων που περιέχονται στο κυτταρόπλασμα των κοκκιοκυττάρων και των μονοκυττάρων<sup>(1)</sup>. Τα ANCA είναι ένας ορολογικός δείκτης μερικών νεκρωτικών αγγειίτιδων αγγείων μικρού (μέσου) μεγέθους, ιδιαιτέρως της κοκκιωματώσης του Wegener (GW), της μικροσκοπικής πολυαγγειίτιδας (PAM), της νεκρωτικής σπειραματονεφρίτιδας εξωτριχοειδικής ανοσοπενικής (GNNEP, μια μορφή PAM που περιορίζεται στο νεφρό) και, σε μικρότερο βαθμό, του συνδρόμου Churg-Strauss (SCS), που ορίζονται συχνά ως “αγγειίτιδες σχετιζόμενες με ANCA” (VAA)<sup>(2)</sup>.

Πολυάριθμες ενδείξεις, τόσο κλινικές όσο και πειραματικές, δηλώνουν εξάλλου έναν παθογενετικό ρόλο των ANCA στις VAA, ιδιαιτέρως των ANCA-MPO<sup>(3)</sup>.

Μέσω της τυπικής μεθόδου έμμεσου ανοσοφθορισμού (IFI) σε φυσιολογικά ανθρώπινα ουδετερόφιλα μονιμοποιημένα σε απόλυτη αιθανόλη μπορούν να αναγνωριστούν δύο κύριες εικόνες ανοσοφθορισμού: C-ANCA και P-ANCA. Λιγότερο συχνά, μπορούν να αναγνωριστούν δύο άλλες εικόνες φθορισμού, άτυπο C-ANCA και ANCA-Aί, που γενικά δεν σχετίζονται με την παρουσία μιας ιδιοπαθούς αγγειίτιδας<sup>(4)</sup>.

Στους ασθενείς που πάσχουν από VAA οι κύριοι αντιγονικοί στόχοι των ANCA είναι η μυελοϋπεροξειδάση (MPO) και η πρωτεΐνη 3 (PR 3)<sup>(5,6)</sup>.

Η MPO είναι ένα ένζυμο με σημαντικές βακτηριοκτόνες ιδιότητες, που ασκεί μέσω της κατάλυσης των αντιδράσεων της υπεροξειδωσής το σχηματισμό τοξικών προϊόντων όπως HOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και ρίζες οξυγόνου. Επιπλέον, το υποχλωριώδες οξύ και οι μεταβολίτες του μπορούν να ενεργοποιήσουν τους αναστολείς των πρωτεασών και επομένως να διαδραματίσουν έναν ρόλο στην αποδόμηση των ιστών και στη συντήρηση

ενός “φλεγμονώδους” μικροπεριβάλλοντος<sup>(3)</sup>. Η MPO αντιπροσωπεύει περίπου το 5% του ολικού πρωτεϊνικού περιεχομένου των ουδετερόφιλων. Είναι ένα ισχυρώς κατιονικό μόριο που αποτελείται από ένα ετεροδιμερές με M.B. ~ 140 kDa.

Η PR3 είναι μια πρωτεάση της σερίνης ασθενώς κατιοντική που περιέχεται στα κύρια κοκκία (ή κυανόφιλα) των κοκκιοκυττάρων και μονοκυττάρων, που αποτελείται από 228 αμινοξέα και με M.B. 29-31 kDa και η οποία διαθέτει μια αντιμικροβιακή δράση έναντι βακτηρίων και μυκήτων. Το μεγαλύτερο μέρος των φυσιολογικών της λειτουργιών εξαρτάται από την πρωτεολυτική δράση. Σε ένα φλεγμονώδες πλαίσιο απελευθερώνεται στο εξωτερικό του κυττάρου, μαζί με άλλα συστατικά των κοκκίων και ριζών οξυγόνου, όπου μπορεί να αποδομήσει το κολλαγόνο, τις πρωτεογλυκάνες και άλλα συστατικά του συνδετικού ιστού. Μια πρωτεολυτική δράση υπερβολική, παρατεταμένη ή ακατάλληλη είναι όμως πηγή βλαβών για τον οργανισμό<sup>(3)</sup>. Οι ANCA-PR3 επηρεάζουν την ενζυματική αναστολή της PR3 εκ μέρους του φυσιολογικού της αναστολέα α1-αντιθρυψίνης.

Η εικόνα C-ANCA στην πλειοψηφία των περιπτώσεων οφείλεται στην παρουσία ειδικών αντισωμάτων για την PR3, ενώ μια εικόνα P-ANCA μπορεί να προκληθεί από αντισώματα έναντι πολυάριθμων πρωτεϊνών, μεταξύ των οποίων η συχνότερη είναι η MPO. Μέχρι σήμερα, οι ANCA που κατευθύνονται έναντι άλλων κυτταροπλασματικών μερών, διαφορετικών από τις PR3 και MPO, δεν έχουν μια σαφή κλινική σημασία και επομένως δεν είναι χρήσιμες στην εργαστηριακή διάγνωση των VAA<sup>(7,8)</sup>.

Κατόπιν της δημοσίευσης των αποτελεσμάτων του πολυκεντρικού σχεδίου για την τυποποίηση των μεθόδων για τον προσδιορισμό των ANCA<sup>(9)</sup>, εκδόθηκαν οι κατευθυντήριες γραμμές για τη σωστή εκτέλεση και αναφορά των εξετάσεων ANCA σε ασθενείς με υποψία αγγειίτιδας, στις οποίες μπορείτε να ανατρέξετε για εμβάθυνση<sup>(4,10,11)</sup>. Από όσα προέκυψαν σαφώς από την προαναφερθείσα μελέτη, τα αποτελέσματα της οποίας ακολούθως επιβεβαιώθηκαν εκτενώς, ο σωστός προσδιορισμός των ANCA χρησιμοποιεί τη συνδυασμένη εκτέλεση της μεθόδου IFI και τον προσδιορισμό της αναγνωρισμένης αντιγονικής ειδικότητας, μέσω συστημάτων ειδικών για τα αντιγόνα για τα δύο κύρια αντιγόνα MPO και PR3 (μέθοδοι ELISA, FEIA, CLIA)<sup>(12,13)</sup>.

Η συνδυασμένη εκτέλεση των δύο μεθόδων επιτρέπει να επιτευχθεί μια ειδικότητα > 98% ακόμα και έναντι παθολογιών ελέγχου, πολύ μεγαλύτερη από εκείνη που επιτυγχάνεται με την μεμονωμένη χρήση των εξετάσεων.

Ο τίτλος ANCA σχετίζεται, αν και με ορισμένες εξαιρέσεις, με τη δραστηριότητα της νόσου. Ως εκ τούτου, για την παρακολούθηση των ασθενών συνιστάται η χρήση ποσοτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό των ANCA-MPO ή ANCA-PR3<sup>(14)</sup>.

Η ειδικότητα των ANCA (MPO ή PR3) δεν επιτρέπει τη διαφοροποίηση των διαφόρων VAA (GW, PAM, GNNEP, SCS), ωστόσο, η παρουσία P-ANCA/MPO-ANCA είναι περισσότερο δηλωτική μιας διάγνωσης PAM ή GNNEP, ενώ μια θετικότητα C-ANCA/PR3-ANCA συνδέεται συχνότερα με τη GW.

Στη GW και στη PAM (περιλαμβανομένης της μορφής που περιορίζεται στο νεφρό) σε ενεργή φάση ο επιπολασμός των ANCA είναι 70-90%, στη SCS αντίθετως τα ANCA είναι παρόντα μόνο σε ≈ 40% των ασθενών, με την MPO ως υπερισχύουσα αντιγονική ειδικότητα.

Σχετικά με τη διαγνωστική χρησιμότητα του εργαστηριακού δεδομένου, είναι χρήσιμο να θυμόμαστε ότι οι προγνωστικές αξίες, θετική και αρνητική (VPP και VPN αντίστοιχα) εξαρτώνται, εκτός από την ευαισθησία και την ειδικότητα της εξέτασης, και από τον επιπολασμό της νόσου στον διερευνώμενο πληθυσμό. Ένα κατάλληλο αίτημα (αυξημένη πιθανότητα προ της εξέτασης) επιτρέπει τη λήψη ενός αποτελέσματος

πραγματικής κλινικής χρησιμότητας και μειώνει σημαντικά την πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων<sup>(15)</sup>.

Η αναζήτηση των ANCA θα έπρεπε επομένως να εκτελείται σε παρουσία μιας βάσιμης κλινικής υποψίας και ένα θετικό αποτέλεσμα, που δεν επαρκεί από μόνο του για τη διάγνωση VAA, πρέπει να αξιολογηθεί υπό το φως της κλινικής και ιστολογικής εικόνας.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται περιστασιακά θετικά αποτελέσματα ANCA σε παθολογίες που είναι διαφορετικές από τις αγγειίτιδες που σχετίζονται με ANCA, αν και δεν είναι πάντα επιβεβαιωμένα μέσω κατάδειξης της αντιγονικής ειδικότητας για MPO ή PR33.

Πολυάριθμες είναι οι παθολογίες που πρέπει να ληφθούν υπόψη στη διαφορική διάγνωση. Μεταξύ αυτών είναι χρήσιμο να θυμόμαστε, και για την αυξημένη συχνότητά τους, τις λοιμώδεις νόσους και ιδιαίτερως την υποξεία βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα. Αν και η VPN ενός αρνητικού αποτελέσματος είναι γενικά υψηλή, αυτό δεν αποκλείει εντελώς την πιθανότητα μιας VAA, ιδιαίτερως σε ασθενείς με μια ισχυρή κλινική ένδειξη συστηματικής πρωτοπαθούς αγγειίτιδας<sup>(16)</sup>.

## ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

---

Το kit *ZENIT RA PR3* για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ειδικών IgG αντι-PR3 χρησιμοποιεί μια έμμεση ανοσολογική μέθοδο δύο βημάτων με βάση την αρχή της χημειοφωταύγειας.

Το ειδικό αντιγόνο χρησιμοποιείται για την επένδυση των μαγνητικών σωματιδίων (στερεά φάση) και ένα αντισώμα κατά των ανθρώπινων IgG επισημαίνεται με ένα παράγωγο του εστέρα ακριδίνης (συζυγές).

Κατά την πρώτη επώαση τα ειδικά αντισώματα που είναι παρόντα στο δείγμα, στους βαθμονομητές ή στους μάρτυρες δεσμεύονται στη στερεά φάση.

Κατά τη δεύτερη επώαση το συζυγές αντιδρά με τα αντισώματα αντι-PR3 IgG που δεσμεύονται από τη στερεά φάση.

Μετά από κάθε επώαση, το υλικό που δεν δεσμεύεται στη στερεά φάση απομακρύνεται μέσω αναρρόφησης και ακόλουθης πλύσης.

Η ποσότητα του σημασμένου συζυγούς που παραμένει δεσμευμένο στη στερεά φάση αξιολογείται μέσω ενεργοποίησης της αντίδρασης χημειοφωταύγειας και της μέτρησης του φωτεινού σήματος. Το παραγόμενο σήμα, εκφραζόμενο σε σχετικές μονάδες φωτός (RLU, Relative Light Unit), είναι ενδεικτικό της συγκέντρωσης των ειδικών αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα, στους βαθμονομητές και στους μάρτυρες.

## ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ

---

Ο αναλυτής *ZENIT RA Analyzer* εκτελεί με αυτόματο τρόπο όλες τις λειτουργίες που προβλέπονται από το πρωτόκολλο του προσδιορισμού: Προσθήκη στον περιέκτη αντίδρασης των δειγμάτων, βαθμονομητών, μαρτύρων, μαγνητικών σωματιδίων, συζυγούς και διαλυμάτων ενεργοποίησης χημειοφωταύγειας, μαγνητικός διαχωρισμός και πλύση των σωματιδίων, μέτρηση εκπεμπόμενου φωτός.

Το σύστημα υπολογίζει τα αποτελέσματα του προσδιορισμού για τα δείγματα και τους μάρτυρες μέσω καμπύλης βαθμονόμησης που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη και εκτυπώνει μια αναφορά που περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες που είναι σχετικές με τον προσδιορισμό και τον ασθενή.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Υλικά και αντιδραστήρια που παρέχονται

ANTID	1	MP	2,5 mL
-------	---	----	--------

Μαγνητικά σωματίδια επενδυμένα με το αντιγόνο PR3 (πρωτεΐνωση 3) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες σταθεροποίησης, επιφανειοδραστική ουσία, Pro-Clin 300 και αζίδιο του νατρίου (< 0,1 %) ως συντηρητικά.

ANTID	2	CONJ	15 mL
-------	---	------	-------

Πολυκλωνικό αντίσωμα αιγός κατά ανθρώπινων IgG σημασμένο με ένα παράγωγο εστέρα της ακριδίνης (συζυγές), σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες σταθεροποίησης και αζίδιο του νατρίου (< 0,1 %) ως συντηρητικά.

ANTID	3	DIL	25 mL
-------	---	-----	-------

Διάλυμα αραιώσης δειγμάτων: Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει αλβουμίνη ορού βοός, επιφανειοδραστική ουσία, αδρανή κυανή χρωστική, Pro-Clin 300 και Γενταμυκίνη SO<sub>4</sub> ως συντηρητικά.

ANTID	4	CAL A	1,6 mL
-------	---	-------	--------

Ορός ανθρώπου με χαμηλή συγκέντρωση αντισωμάτων αντι-PR3 IgG σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει αλβουμίνη ορού βοός, επιφανειοδραστική ουσία, αδρανή κυανή χρωστική, Pro-Clin 300 και Γενταμυκίνη SO<sub>4</sub> ως συντηρητικά.

ANTID	5	CAL B	1,6 mL
-------	---	-------	--------

Ορός ανθρώπου με υψηλή συγκέντρωση αντισωμάτων αντι-PR3 IgG σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει αλβουμίνη ορού βοός, επιφανειοδραστική ουσία, αδρανή κυανή χρωστική, Pro-Clin 300 και Γενταμυκίνη SO<sub>4</sub> ως συντηρητικά.

Όλα τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.

Τα αντιδραστήρια 1, 2 και 3 είναι τοποθετημένα μαζί σε μια διάταξη που αποτελεί τη φύσιγγα αντιδραστηρίων.

Οι συγκεντρώσεις των βαθμονομητών εκφράζονται σε UA/mL (αυθαίρετες μονάδες) και είναι βαθμονομημένες έναντι ενός εσωτερικού προτύπου αναφοράς. Οι τιμές των συγκεντρώσεων που είναι ειδικές για την παρτίδα του προϊόντος είναι καταχωρημένες στο DATA DISK που βρίσκεται εντός του κιτ.

DATA DISK
-----------

Μίνι-DVD που περιέχει όλες τις πληροφορίες σχετικά με τα προϊόντα της σειράς ZENIT RA (Αντιδραστήρια, Βαθμονομητές, Οροί ελέγχου) ενημερωμένες έως την τελευταία παρτίδα παραγωγής με την εξαίρεση των προϊόντων που έχουν λήξει στην ημερομηνία συμπλήρωσης του νέου DATA DISK.

Αρκεί να φυλάξετε το DATA DISK με τον μεγαλύτερο αριθμό παρτίδας για να διατηρείτε πάντα ενημερωμένες τις απαραίτητες πληροφορίες για τη σωστή λειτουργία του συστήματος.

Απαραίτητα υλικά και αντιδραστήρια που δεν παρέχονται στο kit

- |  |                |
|--|----------------|
| - Αναλυτής ZENIT RA (ZENIT RA Analyzer) **   | Κωδ. Αρ. 41400 |
| - Κύβος υποδοχών ZENIT RA (ZENIT RA Cuvette Cube) **<br>Συσκευασία 960 υποδοχών.   | Κωδ. Αρ. 41402 |
| - Υγρό συστήματος ZENIT RA (ZENIT RA System Liquid)<br>1 φιάλη 0,5 λίτρου διαλύματος 10x.  | Κωδ. Αρ. 41409 |
| - Διάλυμα πλύσης ZENIT RA (ZENIT RA Wash Solution)<br>1 φιάλη 0,5 λίτρου διαλύματος 20x.   | Κωδ. Αρ. 41407 |
| - Σετ εκκινήτων ZENIT RA (ZENIT RA Trigger Set)<br>1 φιάλη των 250 mL Trigger A (διάλυμα προενεργοποίησης)<br>1 φιάλη των 250 mL Trigger B (διάλυμα ενεργοποίησης) | Κωδ. Αρ. 41403 |
| - Διάλυμα ZENIT RA D-SORB (ZENIT RA D-SORB Solution)<br>Συσκευασία 2 φιαλών 1 λίτρου διαλύματος έτοιμου προς χρήση.  | Κωδ. Αρ. 41436 |
| - Φύσιγγα συστήματος ελέγχου ZENIT RA<br>(ZENIT RA Cartridge Checking System) *  | Κωδ. Αρ. 41401 |
| - Σετ άνω πωμάτων ZENIT RA<br>(ZENIT RA Top Cap Set)<br>300 άνω πώματα για το κλείσιμο των περιεκτών των βαθμονομητών μετά την πρώτη χρήση.                        | Κωδ. Αρ. 41566 |

Άλλα συνιστώμενα αντιδραστήρια

ΣΕΤ ΟΡΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ZENIT RA ANCA/GBM  
(ZENIT RA ANCA/GBM CONTROL SET)

Κωδ. Αρ. 41449

3 φιαλίδια του 1,5 mL αρνητικού ανθρώπινου ορού και 3 φιαλίδια του 1,5 mL θετικού ανθρώπινου ορού για αντισώματα αντι-PR3.

## ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

---

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται στο κιτ *ZENIT RA PR3* προορίζονται αποκλειστικά για διαγνωστική χρήση *in vitro* και όχι για χρήση *in vivo* σε ανθρώπους ή ζώα.

Αυτό το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται από επαγγελματίες χρήστες με αυστηρή τήρηση των οδηγιών που αναγράφονται στο παρόν έγγραφο.

Η Menarini δεν μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνη για απώλειες ή ζημιές που απορρέουν από μια χρήση που δεν συμμορφώνεται με τις παρεχόμενες οδηγίες.

### Προφυλάξεις ασφαλείας

Αυτό το προϊόν περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης και επομένως ο χειρισμός του πρέπει να γίνεται σαν να περιέχει μολυσματικούς παράγοντες.

Αυτό το προϊόν περιέχει μέρη με υλικό ανθρώπινης προέλευσης. Όλες οι μονάδες ορού ή πλάσματος που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή των αντιδραστηρίων αυτού του κιτ αναλύθηκαν με μεθόδους εγκεκριμένες από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA) και βρέθηκαν αρνητικές για HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV1 και αντι-HIV2.

Ωστόσο, επειδή καμία μέθοδος εξέτασης δεν είναι δυνατό να προσφέρει πλήρη διασφάλιση για την απουσία παθογόνων παραγόντων, όλο το υλικό ανθρώπινης προέλευσης θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ως δυνητικά μολυσματικό και ο χειρισμός του θα πρέπει να γίνεται ανάλογα.

Σε περίπτωση συσκευασίας που έχει υποστεί βλάβη με έκλυση των αντιδραστηρίων, προβείτε στην απολύμανση της εν λόγω περιοχής με ένα αραιωμένο διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου, αφού λάβετε τα κατάλληλα προσωπικά μέτρα προστασίας (ποδιά, γάντια, γυαλιά).

Προβείτε στην απόρριψη του χρησιμοποιούμενου για τον καθαρισμό υλικού και των αποβλήτων της συσκευασίας που αφορούσε η έκλυση, με βάση τους εθνικούς κανονισμούς για την απόρριψη των δυνητικών μολυσματικών αποβλήτων.

Ορισμένα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Επειδή το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με μόλυβδο, χαλκό και μολυβδικό ορείχαλκο σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια στις σωληνώσεις, συνιστάται να μην απορρίπτετε αντιδραστήρια ή απόβλητα στις αποχετεύσεις αλλά να ακολουθείτε τους εθνικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη δυνητικά επικίνδυνων αποβλήτων.

### Προφυλάξεις λειτουργίας

Για να λάβετε αξιόπιστα αποτελέσματα είναι απαραίτητο να ακολουθήσετε αυστηρά τις παρούσες οδηγίες χρήσης και να ακολουθήσετε επιμελώς όλα όσα υποδεικνύονται στο εγχειρίδιο λειτουργίας του οργάνου.

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται στο κιτ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με το σύστημα *ZENIT RA Analyzer*.

Τα μέρη της φύσιγγας αντιδραστηρίων δεν μπορούν να αφαιρεθούν από τη φύσιγγα και να επανασυναρμολογηθούν.

Μην χρησιμοποιείτε το κιτ μετά την πάροδο της ημερομηνίας λήξης.

---

## ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

---

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το κιτ είναι όλα έτοιμα για χρήση.

---

## ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

---

Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το κιτ σε 2-8 °C στο σκοτάδι σε κατακόρυφη θέση.

Υπό αυτές τις συνθήκες η φύσιγγα αντιδραστηρίων και οι βαθμονομητές είναι σταθεροί έως την ημερομηνία λήξης.

Η φύσιγγα αντιδραστηρίων μετά το άνοιγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για 60 ημέρες αν φυλαχθεί στο ψυγείο σε 2-8 °C

ή επί του οργάνου.

Οι βαθμονομητές μετά το άνοιγμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για 60 ημέρες αν έχουν φυλαχθεί στο ψυγείο σε 2-8 °C και αν η παραμονή επί του οργάνου δεν υπερβαίνει τις 6 ώρες ανά συνεδρία.

Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια και τους βαθμονομητές.

---

## ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

---

Ο προσδιορισμός πρέπει να γίνεται σε ανθρώπινα δείγματα ορού και πλάσματος (EDTA - Ηπαρίνη).

Αντενδείκνυται η χρήση λιπαιμικών δειγμάτων ή δειγμάτων με αιμόλυση ή θολών δειγμάτων.

Αν ο προσδιορισμός εκτελεστεί μετά από πάνω από 8 ώρες από τη λήψη, διαχωρίστε τον ορό από το πήγμα ή το πλάσμα από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, μεταφέροντάς τα από τους πρωτεύοντες σωλήνες διαχωρισμού με γέλη στους δευτερεύοντες σωλήνες χωρίς πρόσθετα.

Πριν αναλυθούν τα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν στο ψυγείο σε 2-8 °C για 7 ημέρες το πολύ.

Αν ο προσδιορισμός εκτελεστεί μετά από πάνω από 7 ημέρες, φυλάξτε τα δείγματα στην κατάψυξη (< - 20 °C).

Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.

---

## ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

---

Για να λάβετε αξιόπιστα αποτελέσματα ανάλυσης, ακολουθήστε αυστηρά τις οδηγίες που αναγράφονται στο εγχειρίδιο λειτουργίας του οργάνου.

### Τοποθέτηση των αντιδραστηρίων

Όλα τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το κιτ είναι έτοιμα για χρήση.

Πριν την εισαγωγή της φύσιγγας αντιδραστηρίων στο σύστημα, ο περιέκτης των μαγνητικών σωματιδίων πρέπει να ανακινήθει με οριζόντια περιστροφή έτσι ώστε να ευνοηθεί η επαναιώρηση των σωματιδίων. Αυτό πρέπει να εκτελεστεί αποφεύγοντας το σχηματισμό αφρού.

Τοποθετήστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων στην περιοχή αντιδραστηρίων του οργάνου χρησιμοποιώντας τον ειδικό οδηγό και αφήστε σε ανακίνηση για τουλάχιστον 30 λεπτά πριν τη χρήση.

Η τοποθέτηση της φύσιγγας αντιδραστηρίων καθορίζει προσωρινά την ανάγνωση του αναγνωριστικού γραμμωτού κωδικού. Στην περίπτωση βλάβης της ετικέτας της φύσιγγας ή στην περίπτωση απουσίας ανάγνωσης, τα αναγνωριστικά στοιχεία της φύσιγγας αντιδραστηρίων μπορούν να εισαχθούν με το χέρι.

Το όργανο διατηρεί αυτόματα σε συνεχή ανακίνηση τα μαγνητικά σωματίδια.

Αν η φύσιγγα αντιδραστηρίων αφαιρεθεί από το όργανο, φυλάξτε την στο σκοτάδι σε 2-8 °C σε κατακόρυφη θέση.

#### Τοποθέτηση βαθμονομητών και μαρτύρων

Οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες ZENIT RA είναι έτοιμοι για χρήση. Αφήστε τους βαθμονομητές και τους μάρτυρες σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και ανακινήστε ήπια το περιεχόμενο, με το χέρι ή μέσω περιδίνησης, αποφεύγοντας το σχηματισμό αφρού. Μην αναποδογυρίζετε τον περιέκτη και μη βγάλετε το διατηρητικό πώμα κλεισίματος (κίτρινο πώμα για τους βαθμονομητές και πράσινα ή μπλε πώματα για τους μάρτυρες).

Αν οι βαθμονομητές ή οι μάρτυρες χρησιμοποιούνται για πρώτη φορά, πιέστε το διατηρητικό πώμα εντελώς προς τα κάτω. Με αυτόν τον τρόπο θα διατηρηθεί η μεμβράνη που σφραγίζει τον περιέκτη επιτρέποντας τη λήψη του υγρού που περιέχεται σε αυτόν. Η επίτευξη της κατάβασης του διατηρητικού πώματος επισημαίνεται από την ταυτόχρονη κάλυψη της ερυθρόχρωμης ταινίας που υπάρχει στην άνω πλευρά της ετικέτας (Εικ. 1 – Σφραγισμένος περιέκτης και Διατηρημένος περιέκτης).

Στην περίπτωση που οι βαθμονομητές ή οι μάρτυρες είχαν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως, ο περιέκτης θα διαθέτει άνω πώμα κλεισίματος (λευκό πώμα) και η ερυθρόχρωμη ταινία της ετικέτας θα είναι καλυμμένη.

Επί του οργάνου πρέπει να τοποθετούνται αποκλειστικά οι περιέκτες χωρίς άνω πώμα (λευκό πώμα) και με την ερυθρόχρωμη ταινία καλυμμένη (Εικ. 1 – Διατηρημένος περιέκτης).

Εισάγετε στο όργανο τους βαθμονομητές ή τους μάρτυρες στην περιοχή δειγμάτων μετά την ανάγνωση του γραμμωτού κωδικού. Τα δεδομένα του γραμμωτού κωδικού μπορούν να εισαχθούν και με το χέρι σε περίπτωση βλάβης της ετικέτας ή σε περίπτωση απουσίας ανάγνωσης.

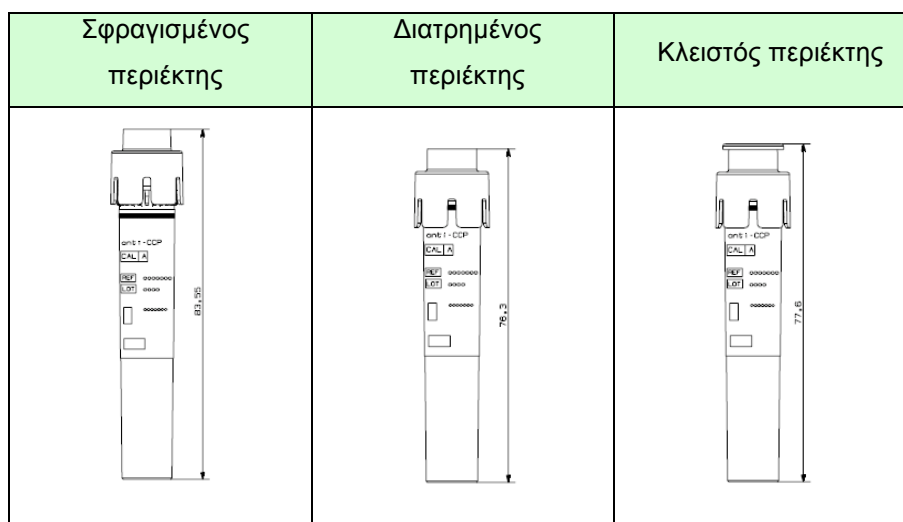
Οι τιμές των συγκεντρώσεων των αντισωμάτων IgG αντι-PR3 που υπάρχουν στους βαθμονομητές ή στους μάρτυρες είναι καταχωρημένοι στο DATA DISK και μεταφέρονται αυτόματα στον αναλυτή. Στην περίπτωση μη μεταφοράς των στοιχείων είναι δυνατή η εισαγωγή τους με το χέρι.

Στο τέλος της συνεδρίας οι περιέκτες των βαθμονομητών και των μαρτύρων πρέπει να κλείνονται με τα ειδικά άνω πώματα (λευκά πώματα) και να μεταφέρονται σε 2-8 °C έως την επόμενη φορά που θα χρησιμοποιηθούν (Εικ. 1 – Κλειστός περιέκτης).

Οι βαθμονομητές μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως τέσσερις φορές το πολύ.



Εικόνα 1: Μορφή περιέκτη



### Τοποθέτηση των δειγμάτων

Προσδιορίστε τα δείγματα χρησιμοποιώντας τη συσκευή ανάγνωσης γραμμωτών κωδικών και εισάγετέ τα στο όργανο, στον ειδικό περιέκτη. Στην περίπτωση απουσίας του γραμμωτού κωδικού στο δείγμα ή στην περίπτωση απουσίας ανάγνωσης, τα αναγνωριστικά στοιχεία του δείγματος μπορούν να εισαχθούν με το χέρι.

Επιλέξτε τις απαιτούμενες παραμέτρους για κάθε δείγμα.

### Βαθμονόμηση

Το όργανο *ZENIT RA Analyzer* χρησιμοποιεί μια καμπύλη βαθμονόμησης αποθηκευμένη στη μνήμη (master curve), που παράγεται από τον κατασκευαστή για κάθε παρτίδα φύσιγγας αντιδραστηρίων.

Οι παράμετροι των “master curve”, μαζί με τις τιμές των συγκεντρώσεων των βαθμονομητών, είναι αποθηκευμένες στη μνήμη του DATA DISK και μεταφέρονται στη βάση δεδομένων του οργάνου.

Οι βαθμονομητές A και B χρησιμοποιούνται για την επαναβαθμονόμηση της “master curve” ανάλογα με το όργανο που χρησιμοποιείται και με τα αντιδραστήρια επί του οργάνου.

Για να εκτελέσετε την επαναβαθμονόμηση αναλύστε εις τριπλούν τους δύο βαθμονομητές A και B και εις απλούν τους μάρτυρες. Οι τιμές της συγκέντρωσης που λαμβάνονται με τους μάρτυρες επιτρέπουν την επικύρωση της νέας βαθμονόμησης.

Αφού γίνει αποδεκτή και αποθηκευτεί στη μνήμη η επαναβαθμονόμηση της “master curve”, όλα τα επόμενα δείγματα μπορούν να αναλυθούν χωρίς περαιτέρω βαθμονόμηση, εκτός από τις ακόλουθες περιπτώσεις:

- όταν έχει τοποθετηθεί επί του οργάνου μια φύσιγγα αντιδραστηρίων με μια καινούρια παρτίδα
- όταν οι τιμές των μαρτύρων δεν συμπεριλαμβάνονται στο εύρος αποδοχής
- όταν εκτελείται η διαδικασία συντήρησης του οργάνου
- όταν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης της εγκυρότητας της επαναβαθμονομημένης “master curve”.

Η εγκυρότητα της επαναβαθμονομημένης “master curve” για το κιτ *ZENIT RA PR3* διαρκεί 15 ημέρες.

Ο χειρισμός της επαναβαθμονόμησης γίνεται με αυτόματο τρόπο από το όργανο.

### Προσδιορισμός

Πιέστε το πλήκτρο εκκίνησης.

1. Το σύστημα αναρροφά 80  $\mu\text{L}$  Διαλύτη δειγμάτων, 40  $\mu\text{L}$  Μαγνητικών σωματιδίων, 100  $\mu\text{L}$  Διαλύτη δειγμάτων και 6  $\mu\text{L}$  δείγματος ή μάρτυρα (για τους βαθμονομητές ο θετικός ορός παρέχεται προαραιωμένος με το Διαλύτη δειγμάτων και ο όγκος που λαμβάνεται είναι 106  $\mu\text{L}$ ). Τα διαλύματα και το εναιώρημα που αναρροφώνται διανέμονται στην υποδοχή αντίδρασης.
2. Η υποδοχή αντίδρασης επωάζεται στο ρότορα σε 37 °C για 10 λεπτά.
3. Μετά από αυτήν τη φάση επώασης, τα μαγνητικά σωματίδια διαχωρίζονται και πλένονται.
4. Στην υποδοχή διανέμονται 200  $\mu\text{L}$  συζυγούς.
5. Η υποδοχή αντίδρασης επωάζεται στο ρότορα σε 37 °C για 10 λεπτά.
6. Μετά από αυτήν την τελευταία φάση επώασης, τα μαγνητικά σωματίδια διαχωρίζονται και πλένονται και η υποδοχή μεταφέρεται στο θάλαμο ανάγνωσης.
7. Η ποσότητα δεσμευμένου συζυγούς στη στερεά φάση, που εκφράζεται σε RLU, είναι απευθείας ανάλογη με τη συγκέντρωση IgG αντι-PR3 που υπάρχει στο δείγμα.
8. Οι απαντήσεις που λαμβάνονται παρεμβάλλονται στην καμπύλη βαθμονόμησης και μετατρέπονται σε συγκεντρώσεις.

Δείγματα με τιμές συγκέντρωσης υψηλότερες από το άνω όριο του εύρους δυνατότητας μέτρησης μπορούν να αραιωθούν και να υποβληθούν εκ νέου σε δοκιμασία. Η νέα τιμή που λαμβάνεται πολλαπλασιάζεται, για τη λήψη του τελικού αποτελέσματος, με τον συντελεστή αραιώσης που χρησιμοποιήθηκε.

### ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

---

Για τη διασφάλιση της εγκυρότητας του προσδιορισμού, οροί ελέγχου με διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης (τουλάχιστον ένας αρνητικός ορός και ένας θετικός ορός) πρέπει να μετρώνται κάθε ημέρα κατά την οποία εκτελείται ο προσδιορισμός.

Αν το εργαστήριό σας απαιτεί, για την επαλήθευση των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού, μια συχνότερη χρήση ή έναν πιο αυξημένο αριθμό μαρτύρων, ακολουθήστε τις διαδικασίες του ελέγχου ποιότητας που είναι καθιερωμένες εκεί.

Αν χρησιμοποιούνται οι οροί ελέγχου ZENIT RA, οι μέσες αναμενόμενες τιμές και τα όρια του εύρους αποδοχής είναι εκείνα που αναφέρονται στο DATA DISK που υπάρχει και στη συσκευασία των μαρτύρων.

Αν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί οροί ελέγχου, είναι απαραίτητο, πριν από την πρώτη τους χρήση, να προσδιορίσετε τις αναμενόμενες τιμές με αντιδραστήρια και το σύστημα ZENIT RA.

Αν η τιμή των μαρτύρων δεν εμπίπτει στο εύρος αποδοχής που προσδιορίζεται, τα σχετικά αποτελέσματα του προσδιορισμού δεν είναι έγκυρα και τα αντίστοιχα δείγματα πρέπει να αναλυθούν εκ νέου.

Σε αυτήν την περίπτωση είναι αναγκαίο να εκτελέσετε πριν την επανάληψη του προσδιορισμού μια διαδικασία επαναβαθμονόμησης.

---

 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ
 

---

Υπολογισμός των αποτελεσμάτων

Η συγκέντρωση των αντισωμάτων IgG αντι-PR3 που υπάρχει στο εξεταζόμενο δείγμα υπολογίζεται αυτόματα από το σύστημα. Οι τιμές μπορούν να απεικονιστούν μέσω ανάγνωσης στο βίντεο ή μέσω εκτύπωσης.

Οι συγκεντρώσεις εκφράζονται σε UA/mL.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της προσδιοριζόμενης ουσίας στο δείγμα γίνεται μέσω ανάγνωσης της απάντησης που λαμβάνεται για κάθε δείγμα σε μια καμπύλη βαθμονόμησης που υποβάλλεται σε επεξεργασία μέσω ενός συστήματος λογιστικού "fitting" με τέσσερις παραμέτρους (4PL, σταθμισμένο Y), που διορθώνεται περιοδικά ανάλογα με τις απαντήσεις που λαμβάνονται στον προσδιορισμό των βαθμονομητών.

Για λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο το σύστημα υπολογίζει τα αποτελέσματα, συμβουλευτείτε το εγχειρίδιο λειτουργίας του συστήματος.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Το εύρος της δυνατότητας μέτρησης του προσδιορισμού *ZENIT RA PR3* είναι: 0,0 – 1067 UA/mL.

Οι κατώτερες από 0,0 UA/mL τιμές είναι συναγόμενες τιμές και μπορούν να αναφερθούν ως "ίσες με 0,0 UA/mL".

Οι τιμές πάνω από 1067 UA/mL μπορούν να αναφερθούν ως "άνω των 1067 UA/mL", ή να υποβληθούν σε εκ νέου δοκιμασία μετά από κατάλληλη αραίωση.

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων μπορούν να ερμηνευτούν με τον ακόλουθο τρόπο:

(UA/mL)	Ερμηνεία
< 10	Το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως αρνητικό για την παρουσία IgG αντι-PR3
10÷20	Το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως αμφίβολο για την παρουσία IgG αντι-PR3
> 20	Το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως θετικό για την παρουσία IgG αντι-PR3

Οι παραπάνω αναφερόμενες τιμές πρέπει να θεωρούνται μόνο προτεινόμενες τιμές. Το κάθε εργαστήριο πρέπει να προσδιορίζει τα δικά του διαστήματα αναφοράς.

---

 ΟΡΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ
 

---

Για διαγνωστικούς σκοπούς, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με το kit *ZENIT RA PR3* και το σύστημα *ZENIT RA Analyzer* πρέπει να χρησιμοποιούνται από κοινού με τα άλλα κλινικά και εργαστηριακά στοιχεία που είναι στη διάθεση του ιατρού.

Η βακτηριακή μόλυνση των δειγμάτων και η απενεργοποίηση στη θερμότητα μπορούν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα του προσδιορισμού.

Τα ετερόφιλα αντισώματα που υπάρχουν στα δείγματα ανθρώπινου ορού μπορούν να αντιδράσουν με τα αντιδραστήρια με βάση ανοσοσφαιρίνες, προκαλώντας παρεμβολές στους ανοσολογικούς προσδιορισμούς *in vitro*. Αυτά τα δείγματα μπορούν να δώσουν μη φυσιολογικές τιμές αν αναλυθούν με το κιτ *ZENIT RA PR3*.

#### ANAMENOMENES TIMEΣ

---

Αναλύθηκαν τα δείγματα 99 δοτών που επιλέχθηκαν τυχαία για την επαλήθευση της παρουσίας των αντισωμάτων IgG αντι-PR3.

Όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν προέκυψαν αρνητικά, με μια μέση τιμή 1,0 UA/mL και μια τυπική απόκλιση 1.239 UA/mL.

Με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν υπολογίστηκε το "Limit of Blank" (LoB = η υψηλότερη τιμή που μπορούμε να αναμένουμε σε μια σειρά δειγμάτων που δεν περιέχουν την προσδιοριζόμενη ουσία). Το "Limit of Blank", που προσδιορίστηκε ως το 95<sup>ο</sup> εκατοστημόριο του αρνητικού πληθυσμού, προέκυψε ίσο με 3,5 UA/mL με την Παρτίδα αντιδραστηρίων αρ. 1.

#### ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

---

Εξετάστηκαν με το κιτ *ZENIT RA PR3* ένα σύνολο 333 δειγμάτων εκ των οποίων 50 δείγματα ασθενών που πάσχουν από πρωτοπαθή συστηματική αγγειίτιδα που σχετίζεται με τα ANCA διαγνωσμένη ως κοκκιωμάτωση του Wegener (GW), 45 δείγματα ασθενών που πάσχουν από πρωτοπαθή συστηματική αγγειίτιδα που σχετίζεται με τα ANCA διαγνωσμένη ως μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα (PAM), 109 δείγματα ασθενών που πάσχουν από διαφορετικές παθολογίες (14 χρόνιες φλεγμονώδεις εντερικές νόσοι, 44 με συστηματικό ερυθρεμάτωδη λύκο, 7 με συστηματικές νόσους του συνδετικού ιστού, 20 αγγειίτιδες που δεν σχετίζονται με ANCA, 10 με ρευματοειδή αρθρίτιδα, 14 με λοιμώδεις νόσους), 30 δείγματα από φυσιολογικά άτομα και 99 δείγματα δοτών.

Στον θεωρούμενο ως αρνητικό πληθυσμό (45 δείγματα ασθενών με διάγνωση PAM, 109 δείγματα ασθενών που πάσχουν από διαφορετικές παθολογίες που δεν σχετίζονται με ANCA, 30 δείγματα φυσιολογικών ατόμων και 99 δείγματα δοτών) που μελετήθηκε, 9 δείγματα προέκυψαν θετικά, 8 αμφίβολα και 266 αρνητικά.

- **Διαγνωστική ειδικότητα: 94,0 % (266/283)**

Από τα 17 δείγματα που προέκυψαν "μη αρνητικά", 7 ανήκαν στην ομάδα ασθενών με διάγνωση PAM, 9 στην ομάδα ασθενών που πάσχουν από διαφορετικές παθολογίες και μία στην ομάδα των φυσιολογικών ατόμων.

Στον θεωρούμενο ως θετικό πληθυσμό (50 δείγματα ασθενών με διάγνωση GW) που μελετήθηκε, 11 δείγματα προέκυψαν αρνητικά και 39 θετικά.

**- Διαγνωστική ευαισθησία: 78,0 % (39/50)**

Από τα 11 δείγματα που προέκυψαν “μη θετικά”: 7 δείγματα προέκυψαν θετικά στο “χρυσό πρότυπο” του έμμεσου ανοσοφθορισμού με εικόνα P-ANCA και 4 δείγματα προέκυψαν αρνητικά στο “χρυσό πρότυπο” του έμμεσου ανοσοφθορισμού (ένα εκ των οποίων παρουσίαζε μια “άτυπη” εικόνα).

Με βάση τα αποτελέσματα διαγνωστικής ειδικότητας και ευαισθησίας, η **διαγνωστική συμφωνία είναι 91,6 % (305/333)**.

## ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ

Προειδοποίηση: Τα παρουσιαζόμενα στοιχεία δεν αποτελούν τις προδιαγραφές της λειτουργίας του κιτ, αλλά αποτελούν πειραματική ένδειξη του πώς λειτουργεί το κιτ εντός τέτοιων προδιαγραφών με τον προβλεπόμενο από τον κατασκευαστή τρόπο.

Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα

Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα του κιτ *ZENIT RA PR3* αξιολογήθηκαν με χρήση ενός πρωτοκόλλου με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP5-A2 των Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

Η **ακρίβεια** υπολογίστηκε αναλύοντας τα αποτελέσματα 20 επαναλήψεων πέντε ορών (έναν αρνητικό και τέσσερις θετικούς με διαφορετικές συγκεντρώσεις IgG αντι-PR3) που εκτελέστηκαν με δύο διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων στην ίδια πειραματική συνεδρία.

Η συγκέντρωση του ορού που ήταν αρνητικός για IgG αντι-PR3 (N2) προέκυψε στο εύρος από 0,0 έως 3,0 UA/mL και από 2,1 έως 4,4 UA/mL αντίστοιχα με την παρτίδα αντιδραστηρίων αρ. 1 και αρ. 2.

Στον Πίνακα αναγράφονται τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με τους 4 θετικούς ορούς.

Δείγμα	Αντιδραστήρια Αρ. παρτίδας	Μέση συγκέντρωση (UA/mL)	SD	CV %
P1	1	23,0	0,80	3,5
	2	28,5	0,86	3,0
P2	1	70,0	1,83	2,6
	2	80,0	1,68	2,1
P3	1	110,2	3,74	3,4
	2	145,8	2,93	2,0
P4	1	386,7	6,64	1,7
	2	434,6	8,78	2,0

Η **επαναληψιμότητα** υπολογίστηκε αναλύοντας τα αποτελέσματα του προσδιορισμού πέντε ορών (ένος αρνητικού και τεσσάρων θετικών με διαφορετικές συγκεντρώσεις αντι-PR3 IgG) που εκτελέστηκε εις απλούν με δύο διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων σε 30 διαφορετικές συνεδρίες.

Η συγκέντρωση του ορού αντι-PR3 IgG αρνητικού (N2) προέκυψε ότι συμπεριλαμβάνεται στο εύρος από 0,0 έως 3,8 UA/mL.

Στον Πίνακα αναγράφονται τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με τους 4 θετικούς ορούς.

Δείγμα	Μέση συγκέντρωση (UA/mL)	SD	CV %
P1	24,5	1,56	6,4
P2	71,3	3,09	4,3
P3	124,6	11,05	8,9
P4	391,8	22,87	5,8

#### Γραμμικότητα των αραιώσεων

Η γραμμικότητα των αραιώσεων του κιτ ZENIT RA PR3 αξιολογήθηκε με χρήση ενός πρωτοκόλλου με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP6-A των Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

Προσδιορίστηκαν κλιμακούμενες αραιώσεις 3 ορών υψηλής συγκέντρωσης IgG αντι-PR3, που εκτελέστηκαν με το Διαλύτη δειγμάτων.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ανακεφαλαιώνονται στον ακόλουθο πίνακα.

Δείγμα	Συντελεστής αραιώσης	Μετρηθείσα συγκέντρωση (UA/mL)	Αναμενόμενη συγκέντρωση (UA/mL)	Ανάκτηση %
1	1	377,4	-	(100)
	2	186,7	188,7	98,9
	4	84,7	94,4	89,7
	8	37,0	47,2	78,4
2	1	957,1	-	(100)
	2	493,1	478,6	103,0
	4	256,1	239,3	107,1
	8	131,8	119,6	110,2
	16	71,0	59,8	118,7
3	1	206,9	-	(100)
	2	111,6	103,5	107,8
	4	64,0	51,7	123,8
	8	33,4	25,9	129,0

Σε κάθε περίπτωση καθίσταται απαραίτητο να υπογραμμιστεί ότι δεν μπορούν όλοι οι οροί, όταν μετρώνται σε διαφορετικές αραιώσεις, να παρέχουν γραμμικά αποτελέσματα στο εσωτερικό του εύρους της δυνατότητας μέτρησης, καθώς το αποτέλεσμα εξαρτάται όχι μόνο από τη συγκέντρωση αλλά και από τη συγγένεια των αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα.

#### Ευαισθησία της ανάλυσης

Η ευαισθησία της ανάλυσης του κιτ ZENIT RA PR3, εκφρασμένη ως **όριο ανίχνευσης** (Limit of Detection – LoD: δηλ. η μικρότερη ποσότητα προσδιοριζόμενης ουσίας που η μέθοδος είναι σε θέση να μετρήσει) αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας ένα πρωτόκολλο με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP17-A των Clinical and Laboratory Standards (CLSI) και τον τύπο υπολογισμού  $LoD = LoB + C_{\beta} SD_s$  (όπου LoB

παριστά την τιμή του “Limit of Blank”,  $SD_s$  την εκτιμώμενη τυπική απόκλιση της κατανομής του δείγματος χαμηλής συγκέντρωσης και  $C_b$  απορρέει από το  $95^\circ$  εκατοστημόριο της τυπικής καμπύλης του Gauss).

Χρησιμοποιήθηκαν 4 δείγματα χαμηλής συγκέντρωσης προσδιοριζόμενης ουσίας, προσδιορισμένα εις απλούν με δύο διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων σε 30 διαφορετικά πειράματα.

Το όριο ανίχνευσης του kit *ZENIT RA PR3* προέκυψε ίσο με 7,3 UA/mL.

Οι τιμές του ορίου ανίχνευσης, μαζί με ζητήματα κλινικού χαρακτήρα και αποτελέσματα σύγκρισης με μεθόδους αναφοράς συνέβαλλαν στον προσδιορισμό της τιμής αποκοπής (cut-off).

#### Ειδικότητα της ανάλυσης: Παρεμβολές

Μία μελέτη που βασίστηκε στις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP7-A2 των CLSI κατέδειξε ότι οι αποδόσεις του προσδιορισμού δεν επηρεάζονται από την παρουσία των δυνητικών ουσιών παρεμβολής που αναγράφονται στον ακόλουθο πίνακα, έως τη συγκέντρωση του πειράματος.

Δυνητικές ουσίες παρεμβολής	Μέγιστη συγκέντρωση του πειράματος
Ελεύθερη χολερυθρίνη	20 mg/dL
Συζευγμένη χολερυθρίνη	28 mg/dL
Αιμοσφαιρίνη	1000 mg/dL
Λιπαρά οξέα	3000 mg/dL

Αντενδείκνυται ωστόσο η χρήση λιπαιμικών δειγμάτων, δειγμάτων με αιμόλυση ή θολών δειγμάτων.

#### Ειδικότητα της ανάλυσης: Διασταυρούμενες αντιδράσεις

Για την αξιολόγηση των δυνητικών διασταυρούμενων αντιδράσεων του αντιγόνου, που χρησιμοποιείται για την ευαισθητοποίηση των μικροσωματιδίων, διεξήχθη μια μελέτη με 24 δείγματα, όλα με υψηλά επίπεδα άλλων αυτοαντισωμάτων και αρνητικά για IgG αντι-PR3.

Τα χρησιμοποιούμενα δείγματα υποδιαιρέθηκαν ως εξής: SS-A (2), SS-B (3), U1-snRNP (1), Jo-1 (2), Scl-70 (2), Cenp B (2), ιστόνες (1), πυρηνιακά (1),  $\beta_2$ -GPI/CL IgG (2) και γλιαδίνη/t-TG (3), CCP (1), RF (1), dsDNA (3).

Η μελέτη δεν έδειξε καμία σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση του αντιγόνου σε στερεά φάση με τα άλλα αυτοαντισώματα.

#### Επίδραση κορεσμού σε υψηλές δόσεις

Μερικές ανοσολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των δειγμάτων που περιέχουν την προσδιοριζόμενη ουσία σε εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να δώσουν φαινομενικά επίπεδα προσδιοριζόμενης ουσίας χαμηλότερης τιμής (φαινόμενο hook).

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται στο kit *ZENIT RA PR3*, όντας μια μέθοδος με δύο επώσεις, δεν εμφανίζει αυτό το φαινόμενο.

Ένα δείγμα με εξαιρετικά υψηλή συγκέντρωση (άνωθεν του εύρους μέτρησης) IgG αντι-PR3 επιβεβαίωσε την απουσία επιπέδου “hook” έως τη συγκέντρωση των 20831 UA/mL.

### Σχετική Ευαισθησία και Ειδικότητα

Η παρουσία αντισωμάτων IgG αντι-PR3 προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας το kit *ZENIT RA PR3* και μια μέθοδο προσδιορισμού ELISA του εμπορίου σε 226 δείγματα. 50 δείγματα ασθενών που πάσχουν από πρωτοπαθή συστηματική αγγειίτιδα που σχετίζεται με τα ANCA διαγνωσμένη ως κοκκιωμάτωση Wegener, 43 δείγματα ασθενών που πάσχουν από πρωτοπαθή συστηματική αγγειίτιδα που σχετίζεται με τα ANCA διαγνωσμένη ως μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα, 103 δείγματα ασθενών που πάσχουν από διαφορετικές παθολογίες (χρόνιες φλεγμονώδεις εντερικές νόσοι, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, συστηματικές νόσοι του συνδετικού ιστού, αγγειίτιδες που δεν σχετίζονται με ANCA, ρευματοειδής αρθρίτιδα, λοιμώδεις νόσοι) και 30 δείγματα από φυσιολογικούς ασθενείς.

4 δείγματα έδωσαν αντικρουόμενα αποτελέσματα μεταξύ του προσδιορισμού *ZENIT RA* και του προσδιορισμού ELISA του εμπορίου.

*Η σχετική συμφωνία* προέκυψε επομένως ότι είναι ίση με 98,2 % (222/226).

*Η σχετική ευαισθησία* προέκυψε ότι είναι ίση με 97,8 % (45/46).

*Η σχετική ειδικότητα* προέκυψε ότι είναι ίση με 98,3 % (177/180).

Το δείγμα που προέκυψε αρνητικό με το kit *ZENIT RA PR3* και θετικό με το kit ELISA ανήκε στην ομάδα δειγμάτων με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο.

Τα τρία δείγματα που προέκυψαν θετικά με το kit *ZENIT RA PR3* και αρνητικά με το kit ELISA ανήκαν: δύο στην ομάδα δειγμάτων με κοκκιωμάτωση Wegener και ένα στην ομάδα δειγμάτων με μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα.

### Ορός αναφοράς

Η ποσότητα των αντισωμάτων αντι-PR3 IgG που υπάρχουν στο δείγμα "PR3-ANCA HUMAN REFERENCE SERUM # 16 (CDC, Αρ. καταλ. IS2721, Αρ. παρτίδας 07-0002) που μετρήθηκε με το kit *ZENIT RA PR3*, μετά από κατάλληλη αραίωση, βρέθηκε ότι είναι 2282 UA/mL.

### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wiik A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 97 ( Suppl 6 ) : S12-S13, 1989.
2. Jennette JC, Falk RJ. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseases : a review. Am J Kidney Dis 1990; 15 : 517-29.
3. Chen M, Kallenberg CGM. New advantages in the pathogenesis of ANCA-associated vasculitides. Clin Exp Rheumatol 2009, 27( s.52 ) : 108-14. Review.
4. Savige J, Gillis D, Benson E, et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies. Am J Clin Pathol 1999; 111: 507-13.



5. Sinico RA, Radice A, Pozzi C, et al. Diagnostic significance and antigen specificity of antineutrophil cytoplasmic antibodies in renal disease : a prospective multicentre study. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9 : 505-10.
6. Radice A, Sinico RA. Antineutrophil cytoplasmic antibodies ( ANCA ). *Autoimmunity* 2005;38: 93-103.
7. Vecchi M, Bianchi MB, Sinico RA, Radice A, et al. Antibodies to neutrophil cytoplasm in Italian patients with ulcerative colitis : sensitivity, specificity and recognition of putative antigens. *Digestion* 1994 ; 55: 34-9.
8. Merkel PA, Polisson RP, Chang YC, Skates SJ, et al. Prevalence of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies in a Large Inception Cohort of Patients with Connective Tissue Disease. *Ann Int Med* 1997; 126: 866-73.
9. Hagen EC, Daha MR, Andrassy K, Csernok E, et al for the EC/BRC Project for ANCA Assay Standardization. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney Int* 1998; 53: 743-53.
10. Sinico RA, Radice A, Tonutti E, Villalta D, et al per il gruppo FIRMA. Proposta di linee guida per la determinazione degli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili ( ANCA ). *Riv Med Lab-JLM* 2002; 3 (4): 20-24.
11. Savige J, Dimech W, Fritzier M, et al for the International Group for Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies ( ANCA ). Addendum to the International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies: quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 312-18.
12. Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Diagnostic predicting value of ANCA serology. *Kidney Int* 1998; 53: 796-8.
13. Schmitt WH, van der Woude FJ. Clinical Applications of Antineutrophil Cytoplasmic Antibody Testing. *Curr Opin Rheumatol* 2004 ; 16(1): 9-17.
14. Sinico RA, Radice A, Corace C, Di Toma L, Sabadini E. Value of a New Automated Fluorescence Immunoassay ( ELIA ) for PR3 and MPO-ANCA in Monitoring Disease Activity in ANCA-Associated Systemic Vasculitis. *Ann NY Acad Sci* 2005;1050: 185-92.
15. Mandl LA, Solomon DH, Smith EL, Lew RA, Katz JN, Shmerling RH. Using antineutrophil cytoplasmic antibody testing to diagnose vasculitis : can test-ordering guidelines improve diagnostic accuracy ? *Arch Inter Med* 2002; 162:1509-14.

16. Radice A, Sinico RA. La diagnosi clinica e di laboratorio delle malattie autoimmune sistemiche: le vasculiti. In: Il Laboratorio nelle Malattie Reumatiche Autoimmuni, R Tozzoli, N Bizzaro, D Villalta, E Tonutti, Ed. Aesculapio 2007.

**\*\* Ο αναλυτής ZENIT RA Analyzer και τα εξαρτήματα που προσδιορίζονται από τον αστερίσκο κατασκευάζονται από την Immunodiagnostic Systems S.A., Rue E. Solvay, 101, B-4000 Liège, Βέλγιο και διανέμονται από την A. Menarini Diagnostics Srl.**

**\*\* Τα αντιδραστήρια προσδιορισμού Zenit RA κατασκευάζονται από την TECHNOGENETICS S.r.l., Viale Casiraghi 471, 20099 - Sesto San Giovanni (MI) - Ιταλία και διανέμονται από την A. Menarini Diagnostics Srl.**



**TECHNOGENETICS S.r.l.**  
Viale Casiraghi 471  
20099 – Sesto San Giovanni (MI)  
Ιταλία

#### **GREECE**

**Διανέμεται στην ΕΛΛΑΔΑ από την**  
MENARINI ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ ΑΕΒΕ  
Λ. Βουλιαγμένης 575- 16451 Αργυρούπολη – Αθήνα  
Τηλ.: +30 210 9944952 - Φαξ: +30 210 9945029  
Γραμμή Εξυπηρέτησης Διαβήτη: 801 11 44400  
[www.menarinidiagnostics.gr](http://www.menarinidiagnostics.gr) - e-mail: [mendiagr@otenet.gr](mailto:mendiagr@otenet.gr)