



A x i s - S h i e l d

Anti-CCP

IVD



REF FCCP600

Για επαγγελματική χρήση μόνο



Axis-Shield Diagnostics Limited

The Technology Park, Dundee DD2 1XA, Ηνωμένο Βασίλειο.

Τηλ.: +44 (0) 1382 422000, Φαξ: +44 (0) 1382 422088.

E-mail: shield@axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com

Η δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP είναι μια ημιποσοτική/ποιοτική ανάλυση ενζυματικής ανοσοαπορρόφησης (ELISA) για την ανίχνευση της κατηγορίας IgG αυτοαντισωμάτων ειδικών για το κυκλικό κίτρουλλινωμένο πεπτιδίο (CCP) στον ανθρώπινο ορό (συμπεριλαμβανομένων σωληναρίων διαχωρισμού ορού (SST)) ή στο πλάσμα (EDTA, ηπαρινικό λίθιο ή κίτρικο νάτριο). Η ανίχνευση των αντισωμάτων αντι-CCP χρησιμεύει για να βοηθήσει στη διάγνωση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (ΡΑ) και πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές πληροφορίες. Τα επίπεδα αυτοαντισωμάτων αντιπροσωπεύουν μία παράμετρο σε μια διαγνωστική διαδικασία πολλαπλών κριτηρίων, που περιλαμβάνει τόσο κλινικές όσο και βασισμένες στα εργαστηριακά ευρήματα αξιολογήσεις. Για in vitro διαγνωστική χρήση.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια συχνή, συστηματική αυτοάνοση νόσος που επηρεάζει 0,5-1,0% του ενήλικου πληθυσμού. Η ΡΑ χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή του αρθρικού υγρού, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε προοδευτική καταστροφή της άρθρωσης και σε πολλές περιπτώσεις να οδηγήσει σε αναπηρία και μείωση της ποιότητας ζωής.¹ Είναι γενικά αποδεκτό ότι η πρώιμη παρέμβαση είναι ζωτικής σημασίας στην πρόληψη μη αναστρέψιμης βλάβης της άρθρωσης και είναι συνεπώς σημαντικό να γίνεται διάγνωση της ΡΑ όσο το δυνατόν νωρίτερα στην πορεία της νόσου.^{2,3} Η διάγνωση της ΡΑ βασίζεται κυρίως σε κλινικά, ακτινολογικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά. Η συχνότερη οροδιαγνωστική δοκιμασία είναι η μέτρηση του ρευματοειδούς παράγοντα (RF).⁴ Αν και η δοκιμασία RF έχει καλή ευαισθησία, δεν είναι ειδική για τη ΡΑ, δεδομένου ότι ο ρευματοειδής παράγοντας είναι επίσης παρών σε υγιή άτομα και ασθενείς με άλλες ρευματικές ή φλεγμονώδεις παθήσεις, αυτοάνοσες νόσους ή χρόνιες λοιμώξεις.⁵

Εδώ και αρκετά χρόνια, έχει αναγνωριστεί ότι αντισώματα στον αντι-περιπυρηνικό παράγοντα (ΑΡΡ) και στην κερατίνη (ΑΚΑ) είναι ειδικά για ΡΑ σε υψηλό βαθμό. Αναφέρθηκε στη συνέχεια ότι και τα δύο αυτά αντισώματα αντέδρασαν με τη φυσική φιλαγγρίνη και σήμερα αναφέρονται ως αντισώματα αντι-φιλαγγρίνης (ΑΦΑ).^{6,7,8} Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι όλα αυτά τα αντισώματα στρέφονται έναντι επιτόπων που περιέχουν κίτρουλλίνη.⁹ Η κίτρουλλίνη είναι ένα μη τυπικό αμινοξύ, καθώς δεν ενσωματώνεται στις πρωτεΐνες κατά τη διάρκεια της σύνθεσης των πρωτεϊνών. Μπορεί ωστόσο να παραχθεί μέσω μετα-μεταφραστικής τροποποίησης υπολειμμάτων αργινίνης από το ένζυμο απαμινάση πεπτιδυλ-αργινίνης (ΡΑΔ).¹⁰ Το 1998, οι Schellekens και συνεργάτες ανέφεραν ότι αντισώματα αντιδραστικά με γραμμικά συνθετικά πεπτιδία που περιέχουν κίτρουλλίνη ήταν σε υψηλό βαθμό ειδικά για ΡΑ σε μια δοκιμασία ELISA.¹¹ Μετέπειτα μελέτες κατέδειξαν ότι κυκλικές παραλλαγές αυτών των γραμμικών πεπτιδίων, που ονομάστηκαν κυκλικά κίτρουλλινωμένα πεπτιδία (CCP), ήταν το ίδιο ειδικά για ΡΑ αλλά με υψηλότερη ευαισθησία από τα γραμμικά πεπτιδία.¹² Σε μια προσπάθεια περαιτέρω βελτίωσης της ευαισθησίας της δοκιμασίας CCP, μια αποκλειστική βιβλιοθήκη πεπτιδίων που περιέχουν κίτρουλλίνη υποβλήθηκε σε διαλογή με ορούς ΡΑ και ανακαλύφθηκε ένα νέο σύνολο πεπτιδίων (CCP2), το οποίο έδωσε ανώτερη απόδοση σε σύγκριση με τη δοκιμασία CCP1.¹³ Τα τελευταία χρόνια, πολλές δημοσιευμένες αναφορές έχουν επιβεβαιώσει τη διαγνωστική απόδοση της δοκιμασίας CCP2.¹⁴ Τα αντισώματα αντι-CCP, τα οποία αναφέρονται συχνά ως αντισώματα αντι-κίτρουλλινωμένων πρωτεϊνών/πεπτιδίων (ΑΚΡΑ), έχει βρεθεί ότι είναι παρόντα σε πολύ πρώιμα στάδια της νόσου, συχνά με απουσία κλινικών συμπτωμάτων, και πολλές αναφορές υποδεικνύουν ότι αυξημένα επίπεδα αντισωμάτων αντι-CCP μπορούν να προβλέψουν την ανάπτυξη διαβρωτικής νόσου.^{15,16,17,18,19,20} Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ένα σημαντικό ρόλο για τα κυκλικά κίτρουλλινωμένα πεπτιδία στη διάγνωση της ΡΑ σε πρώιμο στάδιο της πορείας της νόσου.







Το 2010, δημοσιεύθηκαν τα *ACR / EULAR Rheumatoid Arthritis Classification Criteria* (Κριτήρια ταξινόμησης ρευματοειδούς αρθρίτιδας ACR / EULAR), τα οποία αντικατέστησαν τα "παλιά" κριτήρια ACR του 1987, τα οποία θεωρούνταν ευρέως ως κατάλληλα για την πρώιμη διάγνωση της ΡΑ. Τα αναθεωρημένα κριτήρια ταξινόμησης, που δημοσιεύθηκαν από κοινού από το Αμερικανικό Κολλέγιο Ρευματολογίας (American College of Rheumatology - ACR) και την Ευρωπαϊκή Ένωση κατά του Ρευματισμού (European League Against Rheumatism - EULAR), συνιστούν ένα σύστημα βαθμολόγησης σημείων μεταξύ 0 και 10. Τα νέα κριτήρια ταξινόμησης προορίζονται να εφαρμόζονται σε κάθε άτομο που παρουσιάζει οριστικά διαγνωσμένη υμενίτιδα (μη διαφοροποιημένη φλεγμονώδης αρθρίτιδα). Τα τέσσερα πρόσθετα κριτήρια ήταν ο αριθμός των εμπλεκόμενων αρθρώσεων, η μη φυσιολογική οροδιαγνωστική κατάσταση, η αντίδραση οξείας φάσης και η διάρκεια των συμπτωμάτων στις εμπλεκόμενες αρθρώσεις. Για πρώτη φορά, τα οροδιαγνωστικά κριτήρια συμπεριέλαβαν τη μέτρηση των ΑΚΡΑ, όπως αντι-CCP, καθώς και κάποιον καθορισμό ενός χαμηλού θετικού και υψηλού θετικού οροδιαγνωστικού αποτελέσματος.²¹

Η δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP είναι μια δοκιμασία ELISA που βασίζεται στην ανίχνευση αυτοαντισωμάτων στον ανθρώπινο ορό ή πλάσμα έναντι ενός συνθετικού κυκλικού πεπτιδίου που περιέχει τροποποιημένα υπολείμματα αργινίνης (πεπτιδία CCP2). Η δοκιμασία παρέχει ένα πρόσθετο εργαλείο στη διάγνωση ασθενών με ΡΑ.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Τα πηγαδάκια των ταινιών μικροτίτλου είναι επικαλυμμένα με ένα συνθετικό κυκλικό κιτρουλλινιωμένο πεπτίδιο υψηλής καθαρότητας που περιέχει τροποποιημένα υπολείμματα αργινίνης. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επώασης, ειδικά αυτοαντισώματα στον αραιωμένο ορό ή πλάσμα συνδέονται στην επικαλυμμένη με αντιγόνο επιφάνεια. Τα πηγαδάκια στη συνέχεια πλένονται για να απομακρυνθούν τα αδέσμευτα υλικά. Στη δεύτερη επώαση, το σύζευγμα, ένα ενζυμικά σημασμένο πολυκλωνικό αντίσωμα στην ανθρώπινη IgG, δεσμεύει τα αυτοαντισώματα που έχουν συνδεθεί στην επιφάνεια. Μετά από περαιτέρω πλύση, τα ειδικά αυτοαντισώματα ιχνηλατούνται μέσω επώασης με το υπόστρωμα. Η προσθήκη του διαλύματος διακοπής τερματίζει την αντίδραση, δίνοντας ένα χρωματισμένο τελικό προϊόν, και η ποσότητα του δεσμευμένου συζεύγματος μετريέται σε μονάδες απορρόφησης. Στο ποιοτικό πρωτόκολλο, η ποσότητα του συζεύγματος που δεσμεύεται από το δείγμα συγκρίνεται με εκείνη που δεσμεύεται από το μάρτυρα αναφοράς. Στο ημιποσοτικό πρωτόκολλο, η συγκέντρωση του αυτοαντισώματος αντι-CCP μπορεί να υπολογιστεί μέσω παρεμβολής από μια καμπύλη δόσης-απόκρισης με βάση τους βαθμονομητές.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΚΙΤ

CONJ	1 x 15,0 mL	Σημασμένο με υπεροξειδάση του χρένου (horseradish) πολυκλωνικό αντίσωμα αίγας έναντι ανθρώπινης IgG, 0,1% (βάρος κατ' όγκο) p-υδροξυφαινυλοξικό οξύ, 0,15% (βάρος κατ' όγκο) Proclin και 1% σταθεροποιητής πρωτεΐνης (βόειας προέλευσης) (βάρος κατ' όγκο) σε ρυθμιστικό διάλυμα HEPES. Έτοιμο προς χρήση. Προσοχή: προειδοποίηση	
SUBS	1 x 15,0 mL	3,3',5,5'-τετραμεθυλβενζιδίνη, ρυθμιστικό διάλυμα. Έτοιμο προς χρήση. Να μην εκτίθεται σε φως κατά τη διάρκεια της φύλαξης. Προσοχή: προειδοποίηση	 
SOLN STOP	1 x 15,0 mL	Υδατικό διάλυμα 0,25mol/L θειικού οξέος Έτοιμο προς χρήση. Προσοχή: Κίνδυνος	
BUF WASH 10 X	3 x 25,0 mL	Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, 1,3% (όγκος κατ' όγκο) Tween 20 Αραιώστε πριν τη χρήση.	
MTP 8 x 12	8 (αποσπώμενες) ταινίες μικροτίτλου με 12 πηγαδάκια η καθεμία	Επικαλυμμένες με συνθετικό κυκλικό κιτρουλλινιωμένο πεπτίδιο, σε επανασφραγιζόμενη αλουμινένια συσκευασία με ξηραντικό υλικό.	
SAMPLE DIL 5 X	1 x 25,0 mL	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, σταθεροποιητής πρωτεΐνης (βόειας προέλευσης), 0,5% (βάρος κατ' όγκο) νατραζίδιο. Αραιώστε πριν τη χρήση. Προσοχή: Κίνδυνος	 
CAL 1	1 x 1,0 mL	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, σταθεροποιητής πρωτεΐνης (βόειας προέλευσης), < 0,1% (βάρος κατ' όγκο) νατραζίδιο. 0 U/mL. Έτοιμο προς χρήση.	
CAL 2 - CAL 6	5 x 1,0 mL	Ανθρώπινο πλάσμα, ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, σταθεροποιητής πρωτεΐνης (βόειας προέλευσης), < 0,1% (βάρος κατ' όγκο) νατραζίδιο. 2, 8, 30, 100, 300 U/mL. Έτοιμο προς χρήση.	
CONTROL REF	1 x 1,5 mL	Ανθρώπινο πλάσμα, ρυθμιστικό διάλυμα, < 0,1% (βάρος κατ' όγκο) νατραζίδιο. Έτοιμο	
CONTROL +	1 x 0,3 mL	Ανθρώπινο πλάσμα, < 0,1% (βάρος κατ' όγκο) νατραζίδιο. Αραιώστε 1:100 με αραιωμένο αραιωτικό δείγματος πριν τη χρήση, όπως για τα δείγματα.	
CONTROL -	1 x 0,3 mL		

ΦΥΛΑΞΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Σταθερότητα του ανοιγμένου κιτ

Ένα κιτ ανοίχθηκε και επαναχρησιμοποιήθηκε σε τρεις περιπτώσεις κατά τη διάρκεια μιας περιόδου τριών μηνών χωρίς αρνητική επίπτωση στην απόδοση του κιτ. Μετά τη χρήση, τα συστατικά πρέπει να επιστρέφονται σε φύλαξη σε θερμοκρασία 2-8°C.

Σημειώσεις χειρισμού και διαδικασίας

1. Φυλάσσετε τα συστατικά του κιτ σε θερμοκρασία 2-8°C και χρησιμοποιήστε τα μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες. Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια που έχουν λήξει.
2. Μην αναμειγνύετε διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας.
3. Μην καταψύχετε τα κιτ.
4. Το πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, το πυκνό διάλυμα αραιωτικού δείγματος και οι θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες πρέπει να αραιώνονται πριν τη χρήση. Όλα τα άλλα αντιδραστήρια είναι έτοιμα προς χρήση.
5. Διασφαλίστε ότι αποφεύγεται η μικροβιακή μόλυνση του αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης και του αραιωμένου αραιωτικού δείγματος και επαναφέρετε στους 2-8°C μετά τη δοκιμασία.
6. Επανατοποθετήστε τις περισσίες (αχρησιμοποίητες) ταινίες μικροτίτλου στην αλουμινένια συσκευασία με το ξηραντικό μέσο. Διασφαλίστε ότι η σφράγιση είναι ολοκληρωτική και επαναφέρετε στους 2-8°C, μέχρι να χρειαστούν.
7. Μην εκθέτετε το υπόστρωμα σε φως κατά τη διάρκεια της φύλαξης.
8. Αποφεύγετε τη μόλυνση των αντιδραστηρίων. Χρησιμοποιήστε ένα καινούριο ρύγχος πιπέτας μίας χρήσης για κάθε χειρισμό αντιδραστηρίου ή δείγματος.

Ενδείξεις αλλοίωσης

Το υπόστρωμα πρέπει να είναι άχρωμο έως πολύ ανοικτό γαλάζιο. Θολότητα ή ίζημα σε οποιοδήποτε συστατικό υποδηλώνει αλλοίωση και το συστατικό πρέπει να απορριφθεί.

Εάν υπάρχουν ορατοί κρύσταλλοι στο διάλυμα πλύσης ή στο αραιωτικό δείγματος κατά την αφαίρεση από φύλαξη σε ψυχρές συνθήκες, αυτοί θα διαλυθούν κατά την αναστροφή και εξισορρόπηση σε θερμοκρασία δωματίου.

Συλλογή και φύλαξη του δείγματος


Η δοκιμασία συνιστάται για δείγματα ανθρώπινου ορού (συμπεριλαμβανομένου σωληναρίου διαχωρισμού ορού (SST)) ή πλάσματος (EDTA, ηπαρινικό λίθιο ή κιτρικό νάτριο). Άλλοι τύποι σωληναρίου δεν έχουν ελεγχθεί για χρήση στη δοκιμασία. Μη χρησιμοποιείτε εμφανώς αιμολυμένα ή θολά δείγματα. Αναμίξτε πλήρως τα αποψυγμένα δείγματα πριν τη δοκιμασία και αποφύγετε την επαναλαμβανόμενη κατάψυξη/απόψυξη. Μην αδρανοποιείτε τα δείγματα με θερμότητα, καθώς αυτό μπορεί να δώσει ψευδή θετικά αποτελέσματα.

Για την προετοιμασία για ανάλυση, ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή του σωληναρίου για τα σωληνάρια συλλογής. Τα δείγματα μπορούν να φυλάσσονται μη αραιωμένα σε θερμοκρασία 2-8°C για τέσσερις εβδομάδες· για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, φυλάσσετε σε θερμοκρασία -20°C ή χαμηλότερη. Δείγματα αραιωμένα σε αναλογία 1:100 σε αραιωμένο αραιωτικό δείγματος πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός 24 ωρών από την αραιώση.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ






Για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο.

Προφυλάξεις ασφαλείας

1. Ακολουθείτε αυστηρά τις οδηγίες στο παρόν εγχειρίδιο, ιδιαίτερα για τις συνθήκες χειρισμού και φύλαξης.
2.  Οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες περιέχουν ανθρώπινο πλάσμα ελεγμένο μέσω αναλύσεων εγκεκριμένων από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των Η.Π.Α. για HBsAg, HIV-1 RNA ή HIV-1 Ag, αντι-HIV-1/HIV-2 και αντι-HCV ή HCV RNA και βρέθηκαν μη αντιδραστικοί/ αρνητικοί. Δεδομένου ότι καμία γνωστή δοκιμασία δεν προσφέρει πλήρη διασφάλιση για την απουσία μολυσματικών παραγόντων, οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικοί και ο χειρισμός τους να γίνεται με τις ίδιες προφυλάξεις όπως και κάθε δυνητικά βιολογικά επικίνδυνο υλικό. Οι εγκεκριμένες από το Clinical and Laboratory Standards Institute (Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων - CLSI) οδηγίες "Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections" (Προστασία των εργαζομένων στα εργαστήρια από επαγγελματικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις) (M29-A3 –Τρίτη έκδοση)²² περιγράφουν πώς θα πρέπει να γίνεται ο χειρισμός αυτών των υλικών σύμφωνα με την καλή εργαστηριακή πρακτική.
3. Μην πιπετάρετε με το στόμα.
4. Μην καπνίζετε, τρώτε, πίνετε ή χρησιμοποιείτε καλλυντικά σε περιοχές όπου γίνεται χειρισμός των κιτ και των δειγμάτων.
5. Κάθε δερματικό πρόβλημα, κοψίματα, ρήξεις ή άλλες δερματικές βλάβες πρέπει να προστατεύονται κατάλληλα.
6. Οι βαθμονομητές, οι μάρτυρες και το πυκνό διάλυμα αραιωτικού δείγματος περιέχουν αζιδιούχο νάτριο, το οποίο μπορεί να αντιδράσει με τις μολύβδινες και χάλκινες σωληνώσεις σχηματίζοντας ιδιαίτερως εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλένετε με μεγάλες ποσότητες νερού για να αποτρέψετε τη συσσώρευση αζιδίων.

7. Φύλλα δεδομένων ασφαλείας υλικού για όλα τα επικίνδυνα συστατικά που περιέχονται σε αυτό το κιτ είναι διαθέσιμα μετά από αίτηση από την Axis-Shield Diagnostics.

Προσοχή: σύμφωνα με την ομοσπονδιακή νομοθεσία, η συσκευή αυτή προορίζεται για πώληση μόνο από γιατρούς ή κατόπιν εντολής γιατρού

 προειδοποίηση Σύζευγμα	<u>προειδοποίηση</u> H317 – <u>πρόληψη</u> P272 – P280 – P363 –	Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Τα μολυσμένα ενδύματα εργασίας δεν πρέπει να βγαίνουν από το χώρο εργασίας. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο. Πλύνετε τα μολυσμένα ενδύματα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε.
 προειδοποίηση Υπόστρωμα	<u>προειδοποίηση</u> H302 – H312 – H315 – H319 – H332 – H335 – <u>πρόληψη</u> P260 – P280 – <u>απάντηση</u> P301+310 – P304+340 – P305+351+338 –	Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Επιβλαβές σε περίπτωση εισπνοής Μην αναπνέετε σκόνη/ αναθυμιάσεις/ αέρια/ σταγονίδια/ ατμούς/ εκνεφώματα Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.
  Κίνδυνος Αραιωτικό δείγματος	<u>προειδοποίηση</u> H302 – H318 – H412 – EUH032 – <u>πρόληψη</u> P264 – P280 – <u>απάντηση</u> P301+310 – P305+351+338 – P330 –	Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη. Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις. Σε επαφή με οξέα ελευθερώνονται πολύ τοξικά αέρια. Πλύνετε τα χέρια σχολαστικά μετά το χειρισμό. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. Ξεπλύνετε το στόμα.
 Κίνδυνος Διάλυμα διακοπής	<u>προειδοποίηση</u> H314 – <u>πρόληψη</u> P260 – P273 – P280 – <u>απάντηση</u> P301+330+331 – P303+361+353 – P304+340 – P305+351+338 –	Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού. Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Αφαιρέστε αμέσως όλα τα μολυσμένα ενδύματα. Ξεπλύνετε το δέρμα με νερό/στο ντους. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Π Ρ Ο Ε Τ Ο Ι Μ Α Σ Ι Α

Υλικά/εξοπλισμός που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

1. Συσκευή ανάγνωσης πλακών/ταινιών με 96 μικροπηγαδάκια με φίλτρο 450 nm.
2. Πιπέτες ακριβείας για τη χορήγηση 10 µL, 100 µL, 1 mL. Αυτόματη πιπέτα για τη χορήγηση 100 µL. Αυτόματη πιπέτα για τη χορήγηση 300 µL για χειροκίνητη πλήυση· η αυτόματη συσκευή πλήυσης πλακών είναι προαιρετική.
3. Γυάλινοι/πλαστικοί ογκομετρικοί κύλινδροι: 1×100 mL, 1×500 mL.
4. Περιέκτες όγκου 1 mL.
5. Απεσταγμένο/απιονισμένο νερό.
6. Απορροφητικό χαρτί.
7. Χρονόμετρο για διαστήματα των 30 και 60 λεπτών.

Προετοιμασία για τη δοκιμασία

Αφήστε τα συστατικά του kit, συμπεριλαμβανομένων των ταινιών μικροτίτλου, να προθερμανθούν μέχρι τους 18-25°C για 30-60 λεπτά πριν τη χρήση. Αναμίξτε τα αντιδραστήρια με ήπια αναστροφή.

Μην αραιώνετε το μάρτυρα αναφοράς.

Αραιώστε τα ακόλουθα αντιδραστήρια και αναμίξτε πλήρως.

Αντιδραστήριο	Όγκος	Προσθήκη
Πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα πλήυσης	1 φιαλίδιο	225 mL απεσταγμένο/απιονισμένο νερό
Πυκνό διάλυμα αραιωτικού δείγματος	1 φιαλίδιο	100 mL απεσταγμένο/απιονισμένο νερό
Θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες/δείγματα	10 µL	1 mL αραιωμένο αραιωτικό δείγματος

Υπολογίστε τον αριθμό των ταινιών μικροτίτλου που απαιτούνται για την τρέχουσα δοκιμασία και τοποθετήστε τις στη θήκη συγκράτησης ταινιών μικροτίτλου. Επιστρέψτε τις περίσσιες ταινίες στην επανασφραγιζόμενη αλουμινένια συσκευασία με το ξηραντικό υλικό και φυλάξτε τις σε θερμοκρασία 2-8°C μέχρι να χρειαστούν. Βεβαιωθείτε ότι όλες οι ταινίες συγκρατούνται με ασφάλεια στη θήκη συγκράτησης ταινιών μικροτίτλου. Οι χρήστες μπορεί να θελήσουν να αριθμήσουν κάθε ταινία κατά μήκος της επάνω πλευράς για ευκολότερη αναγνώριση. Κρατήστε τη θήκη συγκράτησης ταινιών μικροτίτλου για περαιτέρω χρήση.

Π Ρ Ω Τ Ο Κ Ο Λ Λ Ο Τ Η Σ Δ Ο Κ Ι Μ Α Σ Ι Α Σ

Ποιοτικό πρωτόκολλο: μάρτυρας αναφοράς δοκιμασίας, θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες και δείγματα.

Ημιποσοτικό πρωτόκολλο: βαθμονομητές δοκιμασίας (1-6), θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες και δείγματα.

1. Επισημάνετε τα μικροπηγαδάκια για αναγνώριση.
2. Πιπετάρετε εις διπλούν 100 µL μάρτυρα αναφοράς/βαθμονομητές και προαραιωμένους (1:100) θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες στα κατάλληλα μικροπηγαδάκια. Πιπετάρετε είτε εις απλούν είτε εις διπλούν 100 µL προαραιωμένων (1:100) δειγμάτων ασθενούς στα κατάλληλα μικροπηγαδάκια. Συνιστάται τα δείγματα να αναλύονται εις διπλούν, αλλά αυτό είναι προαιρετικό σύμφωνα με τους κανονισμούς του εκάστοτε εργαστηρίου. Αυτό το βήμα δεν πρέπει να υπερβαίνει τα **10 λεπτά** για οποιοδήποτε σετ βαθμονομητών/μαρτύρων/δειγμάτων.
3. Επώαστε για 60 ± 10 λεπτά στους 18-25°C.
4. Μεταγγίστε τα περιεχόμενα των ταινιών με γρήγορη αναστροφή επάνω από ένα νεροχύτη κατάλληλο για την απόρριψη βιολογικών υλικών, έχοντας υπόψη τον δυνητικό μολυσματικό κίνδυνο των δειγμάτων. Στυπώστε τις ανεστραμμένες ταινίες καλά με απορροφητικό χαρτί.
5. Πλύνετε τα μικροπηγαδάκια **τέσσερις φορές** με τουλάχιστον 300 µL αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλήυσης. **Μεταγγίστε και στυπώστε μετά από κάθε βήμα πλήυσης.**
6. Προσθέστε 100 µL συζεύγματος σε κάθε μικροπηγαδάκι.
7. Επώαστε για 30 ± 5 λεπτά στους 18-25°C.
8. Επαναλάβετε τα βήματα 4 και 5.
9. Προσθέστε 100 µL υποστρώματος σε κάθε μικροπηγαδάκι.
10. Επώαστε για 30 ± 5 λεπτά στους 18-25°C. **Μην μεταγγίσετε.**
11. Προσθέστε 100 µL διαλύματος διακοπής σε κάθε μικροπηγαδάκι, με την ίδια σειρά και ρυθμό όπως και για την προσθήκη υποστρώματος. Κτυπήστε ελαφρά τα μικροπηγαδάκια για να αναμιχθούν και βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν ορατές φυσαλίδες.
12. Διαβάστε τις ταινίες στα 450 nm.
13. Διαβάστε τη δοκιμασία εντός 60 λεπτών από την ολοκλήρωση της δοκιμασίας.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Λαμβάνετε υπόψη κάθε ανάλυση ξεχωριστά κατά τον υπολογισμό και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Ποιοτικό πρωτόκολλο

Υπολογίστε το πηλίκο της μέσης τιμής απορρόφησης (οπτική πυκνότητα) για τους θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες και για κάθε (μέσο) δείγμα προς τη μέση τιμή απορρόφησης μάρτυρα αναφοράς:

$$\text{Πηλίκο απορρόφησης} = \frac{\text{Μέση τιμή απορρόφησης δείγματος ή μάρτυρα}}{\text{Μέση τιμή απορρόφησης μάρτυρα αναφοράς}}$$

$$\text{Πηλίκο απορρόφησης} = \frac{\text{(Μέση) τιμή απορρόφησης δείγματος}}{\text{Μέση τιμή απορρόφησης μάρτυρα αναφοράς}}$$

Οι χρήστες πρέπει να υπολογίσουν μια τιμή αποκοπής (cut-off) μεταξύ των θετικών και αρνητικών δειγμάτων που να είναι ειδική για τους πληθυσμούς ασθενών τους. Τα αποτελέσματα από τους πληθυσμούς ασθενών που χρησιμοποιήθηκαν στην κλινική δοκιμή της Axis-Shield υποδεικνύουν την ακόλουθη τιμή αποκοπής:

Πηλίκο απορρόφησης Ερμηνεία του αποτελέσματος

< 0,95

Αρνητικό

≥ 0,95 έως ≤ 1,0

Οριακό - συνιστάται επανάληψη της δοκιμασίας

> 1,0

Θετικό

Ημιποσοτικό πρωτόκολλο

Σχεδιάστε τη μέση τιμή απορρόφησης κάθε βαθμονομητή έναντι log₁₀ συγκέντρωσης βαθμονομητή (βλ. τον ακόλουθο πίνακα) σε κατάλληλο χαρτί γραφημάτων. Οι μέσες συγκεντρώσεις των θετικών και αρνητικών μαρτύρων και των (μέσων) δειγμάτων μπορούν στη συνέχεια να διαβαστούν από την καμπύλη βαθμονόμησης. Ένα τυπικό γράφημα καμπύλης βαθμονόμησης δίνεται παρακάτω για σκοπούς αναφοράς· δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί για ερμηνεία αποτελεσμάτων. Οι προσαρμογές καμπύλης 4-parameter logistic (4PL) και Cubic Spline είναι ικανοποιητικές. Άλλα μοντέλα προσαρμογής καμπύλης δεν συνιστώνται.

Δείγματα με τιμές απορρόφησης πάνω από το βαθμονομητή 6 (300 U/mL) βρίσκονται εκτός του εύρους της δοκιμασίας και πρέπει να αναφέρονται ως > 300 U/mL, να αραιώνονται και να αναλύονται εκ νέου, διορθώνοντας γι' αυτόν τον επιπλέον συντελεστή αραιώσης.

Για την ερμηνεία των ημιποσοτικών αποτελεσμάτων και με βάση τα δεδομένα από τον πληθυσμό αναφοράς* της Axis-Shield, προτείνονται τα ακόλουθα:

(Μέσο) αποτέλεσμα δείγματος

≤ 5 U/mL

> 5 U/mL

Ερμηνεία του αποτελέσματος

Αρνητικό

Θετικό

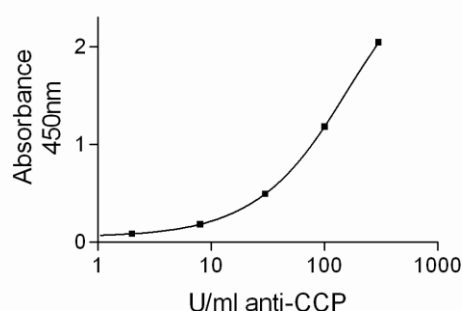
*Αυτό προτείνεται ως κατευθυντήρια γραμμή μόνο. Οι χρήστες συνιστάται να καθιερώσουν ένα εύρος αναφοράς, το οποίο μπορεί να είναι μοναδικό για τον πληθυσμό.

Προσοχή: Όπως και κάθε δοκιμασία που μετρά αντισώματα, η συγκεκριμένη δοκιμασία καθορίζει τη δραστηριότητα του αντισώματος που είναι παρόν στο δείγμα, αντί για τη συγκέντρωση. Η δραστηριότητα μπορεί να επηρεαστεί από έναν αριθμό παραμέτρων, όπως η ισχύς του δεσμού αντιγόνου-αντισώματος.

Συγκεντρώσεις βαθμονομητή

Αριθμός βαθμονομητή	Συγκέντρωση U/mL
1	0
2	2
3	8
4	30
5	100
6	300

Τυπική καμπύλη βαθμονόμησης



ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Διασφαλίστε ότι διενεργείται επαρκής συντήρηση και βαθμονόμηση της συσκευής ανάγνωσης πλακών σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και ότι χρησιμοποιείται το σωστό μήκος κύματος.

Οι χρήστες πρέπει να διασφαλίσουν ότι έχουν εξοικειωθεί πλήρως με τις οδηγίες για τη δοκιμασία, ειδικά με την ενότητα Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις, καθώς και με τις Σημειώσεις χειρισμού και διαδικασίας. Οι χρήστες πρέπει να καταδείξουν ότι μπορούν να λάβουν προδιαγραφές απόδοσης για επαναληψιμότητα και αναφερόμενο εύρος αποτελεσμάτων δοκιμασίας συγκρίσιμες με εκείνες που έχουν καθοριστεί από τον κατασκευαστή πριν την αναφορά των αποτελεσμάτων εξετάσεων ασθενών. Συνιστάται η εκτέλεση προαραιωμένων θετικών και αρνητικών μαρτύρων εις διπλούν σε όλες τις δοκιμασίες, με σκοπό την παρακολούθηση της ποιότητας της διαδικασίας δοκιμασίας. Εκτελέστε τον έτοιμο προς χρήση μάρτυρα αναφοράς εις διπλούν σε όλες τις ποιοτικές δοκιμασίες.

Με δεδομένο ότι ικανοποιούνται οι προδιαγραφές επαναληψιμότητας που καθορίζονται από τον κατασκευαστή, τυχόν αποτυχία οποιουδήποτε μάρτυρα να ικανοποιήσει τις ακόλουθες προδιαγραφές πηλίκου μαρτύρων καθιστά τη δοκιμασία μη έγκυρη και τα αποτελέσματα ασθενούς δεν πρέπει να αναφερθούν. Ο χειριστής μπορεί να επαναλάβει τη δοκιμασία, έχοντας ανασκοπήσει την εκτελούμενη διαδικασία, ή να επικοινωνήσει με τον προμηθευτή/κατασκευαστή. Κατά την επανάληψη της δοκιμασίας, παρασκευάστε φρέσκια αραιώση κάθε μάρτυρα και δείγματος. Τα εργαστήρια μπορεί να επιθυμούν να συμπεριλάβουν εσωτερικούς μάρτυρες σε κάθε διαδικασία δοκιμασίας. Φυλάσσετε τέτοιο υλικό μαρτύρων σε θερμοκρασία -20°C ή χαμηλότερη και αποφεύγετε τους επαναλαμβανόμενους κύκλους κατάψυξης/απόψυξης. Συντηρητικά όπως νατραζίδιο 0,1% (βάρος κατ' όγκο) δεν θα επηρεάσουν τα αποτελέσματα του δείγματος.

Τα επίπεδα αναλυόμενων ουσιών που έχουν αναγνωριστεί σε συγκεκριμένες νόσους είναι εκείνα που έχουν καθοριστεί από τον κατασκευαστή για ειδικούς πληθυσμούς και αυτά ενδέχεται να μην αντικατοπτρίζουν απαραίτητα τη βιβλιογραφία. Τα επίπεδα επίπτωσης, η σχέση τους με ειδικές νόσους, τα εύρη αναφοράς και τα κατάλληλα σημεία αποκοπής πρέπει όλα να υπολογίζονται για τους ειδικούς πληθυσμούς που εξυπηρετούνται από τους χρήστες.

Προδιαγραφές πηλίκου μαρτύρων

Πρωτόκολλο	Προδιαγραφές
Ποιοτικό (πηλίκια)	$\frac{\text{Απορρόφηση θετικού μάρτυρα}}{\text{Απορρόφηση μάρτυρα αναφοράς}} \geq 1,1$
	$\frac{\text{Απορρόφηση αρνητικού μάρτυρα}}{\text{Απορρόφηση μάρτυρα αναφοράς}} < 0,95$
Ημιποσοτικό	Βλ. την επισήμανση του φιαλιδίου θετικού μάρτυρα για το αναμενόμενο εύρος αποδοχής (U/mL)
	Συγκέντρωση αρνητικού μάρτυρα $< 2 \text{ U/mL}$

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

200 δείγματα ορού από ασυμπτωματικούς εμφανώς υγιείς δότες με ηλικιακό εύρος 18-72 έτη, που περιλάμβαναν περίπου ίσους αριθμούς ανδρών [n = 105] και γυναικών [n = 95], εξετάστηκαν με μια δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP200).

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές που θα μπορούσαν να αποδοθούν στο φύλο ή στην ηλικία (υπολογισμένες συγκρίνοντας τα ηλικιακά εύρη ≤ 40 ετών [n = 115] και > 40 ετών [n = 85]).

Η συνολική μέση συγκέντρωση αντι-CCP για το συγκεκριμένο πληθυσμό ήταν $0,63 \pm 0,419 \text{ U/mL}$ (εύρος 0,05-3,8 U/mL).

Με βάση αυτά τα δεδομένα του πληθυσμού αναφοράς και εκείνα ενός κλινικού πληθυσμού, η προτεινόμενη τιμή αποκοπής της δοκιμασίας είναι:

<p>Εύρος αναφοράς $\leq 5 \text{ U/mL} = \text{Αρνητικό}$ $> 5 \text{ U/mL} = \text{Θετικό}$</p>

Αυτό το εύρος αναφοράς προτείνεται μόνο ως κατευθυντήρια γραμμή και κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει ένα εύρος αναφοράς μοναδικό για τον πληθυσμό που εξυπηρετεί, ανάλογα με γεωγραφικούς παράγοντες, παράγοντες σχετικούς με τους ασθενείς, διατροφικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες ή ανάλογα με την κλινική πρακτική. Παρακαλούμε προσέξτε ότι η ρευματοειδής αρθρίτιδα παρουσιάζει διπλάσιο επιπολασμό στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Γραμμικότητα αραίωσης

Η δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP είναι σχεδιασμένη για να είναι γραμμική σε ολόκληρο το εύρος μέτρησης, από το όριο ανίχνευσης (LOD) μέχρι τα 300 U/mL.

Με βάση μια μελέτη που διενεργήθηκε με καθοδήγηση από το έγγραφο EP6-A του CLSI,²³ η δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP κατέδειξε γραμμικότητα από 1,04 U/mL έως 300 U/mL.*

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα· τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά

Δείγματα > 300 U/mL παρουσιάζουν μέση ανάκτηση $\leq 100\% \pm 15\%$ * του αναμενόμενου αποτελέσματος όταν αραιώνονται στο εύρος δοκιμασίας και χρησιμοποιώντας το σωστό συντελεστή αραίωσης.

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα· τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά

Κλινική ευαισθησία και ειδικότητα

Η κλινική ευαισθησία της δοκιμασίας Axis-Shield Anti-CCP (FCCP600) προσδιορίστηκε για 229 άτομα με επιβεβαιωμένη ΡΑ, ενώ η κλινική ειδικότητα προσδιορίστηκε για 285 δείγματα μη ΡΑ (135 από ασθενείς με άλλες ρευματικές και μη ρευματικές διαταραχές και 150 από ασυμπτωματικά εμφανώς υγιή άτομα). Χρησιμοποιώντας μια τιμή αποκοπής 5,0 U/mL, η ευαισθησία υπολογίστηκε ότι είναι 78% με ειδικότητα 99%. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στους ακόλουθους πίνακες.*

Κατηγορία δειγμάτων	Σύνολο n	Θετικά n	% Ευαισθησία
ΡΑ	229	179	78

Κατηγορία δειγμάτων	Σύνολο n	Θετικά n	% Ειδικότητα
Σύνολο δειγμάτων μη ΡΑ	285	4	98,6
Μη ΡΑ υγιή ασυμπτωματικά	150	1	99,3
Δείγματα παθήσεων μη ΡΑ ⁺	135	3	97,8

* Η κλινική ειδικότητα για 135 δείγματα από ασθενείς με άλλες ρευματικές και μη ρευματικές διαταραχές κατηγοριοποιείται στον ακόλουθο πίνακα.*

Δείγματα παθήσεων μη ΡΑ	Σύνολο n	Θετικά n	Κλινική ειδικότητα
Σύνολο	135	3	97,8%
Φλεγμονώδης πολυαρθρίτιδα	41	1	97,6%
EBV IgG θετική	18	1	94,4%
Θυρεοειδίτιδα του Hashimoto	17	0	100%
Σύνδρομο Sjögren	16	1	93,8%
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	16	0	100%
Αγγειίτιδα	5	0	100%
Σκληροδερμία	5	0	100%
Οστεοαρθρίτιδα	4	0	100%
Νόσος του Crohn	3	0	100%
Φαινόμενο Raynaud	3	0	100%
Ελκώδης κολίτιδα	2	0	100%
Ψωριασική αρθρίτιδα	2	0	100%
Αντιδραστική αρθρίτιδα	1	0	100%
Αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα και πολυμυοσίτιδα	2	0	100%

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα· τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά.

Σύγκριση μεθόδων

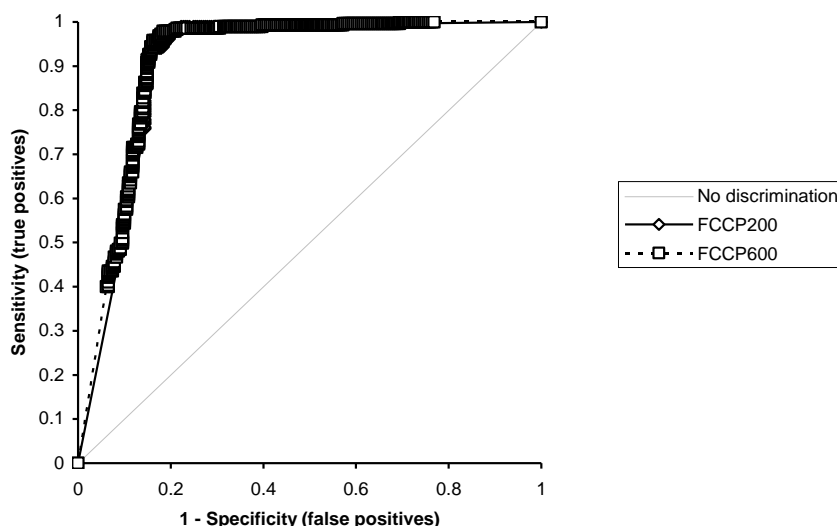
Η δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP600) είναι σχεδιασμένη για να έχει συμφωνία $\geq 99\%$ για δείγματα PA και μη RA όταν συγκρίνεται με μια συγκριτική δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP200). Τα δείγματα PA και μη PA που περιγράφονται στην ενότητα "Κλινική ευαισθησία και ειδικότητα" χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση της δοκιμασίας Axis-Shield Anti-CCP (FCCP600) με τη δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP200). Η τιμή αποκοπής που χρησιμοποιήθηκε για τη δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP200) ήταν 5,0 U/mL, όπως δηλώνεται στο ένθετο συσκευασίας του κατασκευαστή. Χρησιμοποιώντας μια τιμή αποκοπής 5,0 U/mL για τη δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP600), η συμφωνία υπολογίστηκε ότι είναι 99%. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στους ακόλουθους πίνακες.*

Όλα τα δείγματα (514)		FCCP200	
		Θετικά	Αρνητικά
FCCP600	Θετικά	179	4
	Αρνητικά	1	330

Μέθοδος σύγκρισης	FCCP600 έναντι FCCP200
Αριθμός δειγμάτων	65
Κλίση της γραμμής παλινδρόμησης	0,910
Τομή Υ	1,226
Συντελεστής συσχέτισης	0,94

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα: τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά.

Μια ανάλυση Receiver Operator Characteristic (ROC) διενεργήθηκε χρησιμοποιώντας τα παραπάνω δεδομένα που ελήφθησαν για τις δύο δοκιμασίες. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) για τη δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP600) ήταν 0,910 (95% διάστημα εμπιστοσύνης: 0,881-0,940) και 0,903 (95% διάστημα εμπιστοσύνης: 0,871-0,934) για τη συγκριτική δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP (FCCP200), υποδεικνύοντας έτσι ότι και οι δύο δοκιμασίες είναι συγκρίσιμες όσον αφορά την κλινική διαφοροποίησή τους. Η καμπύλη ανάλυσης ROC δίνεται παρακάτω.*



* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα: τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά.

Επαναληψιμότητα

Μια μελέτη διενεργήθηκε με καθοδήγηση από το έγγραφο EP5-A2 του CLSI (επισήμως NCCLS).²⁴ Δύο μάρτυρες αντι-CCP, έξι μέλη του πάνελ ελέγχου ποιότητας (QC) και ένα δείγμα ανθρώπινου ορού εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας δύο παρτίδες αντιδραστηρίων, σε αντίγραφα εις διπλούν, σε δύο διαφορετικούς χρόνους ανά ημέρα για 20 ημέρες (n=80). Τα δεδομένα από αυτήν τη μελέτη συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα ως αντιπροσωπευτικά δεδομένα (στρογγυλεμένα σε 1 δεκαδικό ψηφίο):

Δείγμα	Κιτ Παρτίδα	n	Μέση τιμή (U/mL)	Εντός διαδικασίας		Μεταξύ διαδικασιών		Μεταξύ ημερών		Σύνολο	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Θετικός μάρτυρας	001	80	20,30	1,05	5,2	1,24	6,1	0,00	0,0	1,63	8,0
	003		20,62	0,43	2,1	1,20	5,8	0,00	0,0	1,27	6,2
QC 1	001	80	3,72	0,33	8,8	0,17	4,5	0,13	3,6	0,39	10,5
	003		3,92	0,23	5,8	0,35	8,9	0,04	1,1	0,42	10,7
QC 2	001	80	8,17	0,34	4,2	0,72	8,8	0,00	0,0	0,80	9,8
	003		8,47	0,30	3,6	0,70	8,3	0,25	2,9	0,80	9,5
QC 3	001	80	15,30	0,37	2,4	0,93	6,0	0,30	1,9	1,04	6,8
	003		15,98	0,36	2,2	0,92	5,8	0,00	0,0	0,99	6,2
QC 4	001	80	53,55	2,30	4,3	3,19	6,0	1,71	3,2	4,29	8,0
	003		55,49	2,36	4,2	3,35	6,0	0,00	0,0	4,09	7,4
QC 5	001	80	94,26	3,17	3,4	7,31	7,8	2,01	2,1	8,22	8,7
	003		97,15	2,61	2,7	5,56	5,7	4,79	4,9	7,79	8,0
QC 6	001	80	134,77	4,58	3,4	5,84	4,3	5,74	4,3	9,38	7,0
	003		142,41	5,69	4,0	9,02	6,3	0,00	0,0	10,67	7,5
Μάρτ. αναφ.	001	80	5,18	0,34	6,6	0,24	4,6	0,21	4,0	0,46	9,0
	003		5,09	0,26	5,1	0,21	4,1	0,21	4,2	0,39	7,7
Δείγμα 1	001	80	4,83	0,16	3,3	0,38	7,9	0,24	5,0	0,48	9,9
	003		4,77	0,20	4,1	0,37	7,8	0,25	5,2	0,49	10,2

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα: τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά

Όριο ανίχνευσης

Το όριο ανίχνευσης (LOD) της δοκιμασίας Axis-Shield Anti-CCP σύμφωνα με το έγγραφο EP17-A²⁵ του CLSI (επισήμως NCCLS) βρέθηκε ότι είναι 1,04 U/mL*.

Προσδιορισμοί LOD διενεργήθηκαν χρησιμοποιώντας ένα αρνητικό δείγμα αντι-CCP (60 αντίγραφα) και έξι δείγματα αντι-CCP χαμηλού επιπέδου (15 αντίγραφα το καθένα).

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα: τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά.

Φαινόμενο "High Dose Hook"

Το φαινόμενο "High Dose Hook" είναι ένα φαινόμενο που μπορεί να δώσει αποτελέσματα εντός του δυναμικού εύρους της δοκιμασίας από δείγματα πολύ υψηλού επιπέδου. Για τη δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP, δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο "High Dose Hook" όταν εξετάστηκε ένα δείγμα που περιείχε περίπου 3000 U/mL αντισώματος αντι-CCP.*

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα: τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά.

Παρεμβολή

Η δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP είναι σχεδιασμένη για να έχει μέγιστη απόκλιση στη συγκέντρωση αντι-CCP από τις ακόλουθες ουσίες πιθανής παρεμβολής εντός:

- $\pm 15\%$ για συγκεντρώσεις αντι-CCP $\geq 10,0$ U/mL
- $\pm 10\%$ για συγκεντρώσεις αντι-CCP $\geq 4,0$ U/mL έως $< 10,0$ U/mL
- $< 0,75$ U/mL για συγκεντρώσεις αντι-CCP $< 4,0$ U/mL

Μια μελέτη διενεργήθηκε βασισμένη σε καθοδήγηση από το έγγραφο EP7-A2²⁶ του Clinical and Laboratory Standards Institute (Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων - CLSI) για τη δοκιμασία Axis-Shield Anti-CCP. Έξι δείγματα με επίπεδα αντι-CCP σε ολόκληρο το εύρος δοκιμασίας συμπληρώθηκαν με τις ουσίες πιθανής παρεμβολής που παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα. Η μέγιστη απόκλιση της συγκέντρωσης αντι-CCP που παρατηρήθηκε στα δείγματα κατά τη διάρκεια αυτών των μελετών κυμάνθηκε από:

- $-9,4\%$ έως $3,3\%$ για συγκεντρώσεις αντι-CCP $\geq 10,0$ U/mL
- $-7,3\%$ έως $4,8\%$ για συγκεντρώσεις αντι-CCP $\geq 4,0$ U/mL έως $< 10,0$ U/mL
- $-0,6$ U/mL έως $0,05$ U/mL για συγκεντρώσεις αντι-CCP $< 4,0$ U/mL*

Ουσία πιθανής παρεμβολής	Δεν εντοπίστηκε καμία παρεμβολή μέχρι την ακόλουθη συγκέντρωση
Αιμοσφαιρίνη	4 mg/mL
Χολερυθρίνη	0,2 mg/mL
Τριγλυκερίδια (διάλυμα Intralipid)	15 mg/mL
Ρευματοειδής παράγοντας	200 IU/mL
Ολική πρωτεΐνη (γάμμα σφαιρίνες)	120 mg/mL

* Αντιπροσωπευτικά δεδομένα: τα αποτελέσματα σε μεμονωμένα εργαστήρια ενδέχεται να διαφέρουν από τα δεδομένα αυτά.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ

1. Αν και η παρουσία αντισωμάτων στα CCP σχετίζεται με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, ένα θετικό αποτέλεσμα δεν είναι από μόνο του διαγνωστικό, και τα δεδομένα πρέπει να εξεταστούν υπό το φως άλλων κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων.
2. Ορισμένα άτομα μπορεί να έχουν υψηλά επίπεδα αντισωμάτων αντι-CCP με μικρή ή καμία ένδειξη κλινικής νόσου. Αντίθετα, ορισμένοι ασθενείς με ενεργή νόσο μπορεί να έχουν μη ανιχνεύσιμα επίπεδα αυτών των αντισωμάτων. Η κλινική σημασία αυτών των πληροφοριών επί του παρόντος δεν είναι σαφής.
3. Καθώς το αποτέλεσμα μιας δοκιμασίας αντι-CCP δεν αποτελεί απόδειξη της παρουσίας ή της απουσίας κλινικής νόσου, η θεραπεία δεν θα πρέπει να ξεκινά εξ ολοκλήρου με βάση ένα θετικό αποτέλεσμα αντι-CCP.
4. Η έναρξη ή τροποποιήσεις της θεραπείας δεν πρέπει να βασίζονται σε μεταβολές της συγκέντρωσης των αυτοαντισωμάτων αντι-CCP αλλά στην(ις) κλινική(ές) παρατήρηση(εις).
5. Η κλινική αποτελεσματικότητα της παρακολούθησης των επιπέδων αυτοαντισωμάτων CCP ως ένδειξη της εξέλιξης/ύφεσης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας δεν έχει καθοριστεί.
6. Η αξία των αντι-CCP στη νεανική αρθρίτιδα δεν έχει προσδιοριστεί.
7. Λόγω των ειδικών χαρακτηριστικών των αλληλεπιδράσεων αντιγόνου/αντισώματος, εκείνο που προσδιορίζεται δεν είναι η συγκέντρωση του αντισώματος, αλλά η δραστηριότητα. Δεδομένου ότι οι οροί των ασθενών περιέχουν ετερογενείς πληθυσμούς αντισωμάτων, ορισμένα δείγματα μπορεί να παρουσιάζουν μη γραμμικότητα, ιδιαίτερα σε πολύ υψηλές αραιώσεις δείγματος.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid Arthritis. *Cell* 1996;85:307-10.
2. Landewé RB. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):1-5
3. Lard LR, Visser H, Speyer I, *et al.* Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001;111:446-51.
4. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-24.
5. van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med* 2002;60(10):383-8.
6. Nienhuis RL, Mandema E, Smids C. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964;23:302-05.
7. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, *et al.* Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979;2:97-9.
8. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, *et al.* Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50:611-8.
9. Sebbag M, Simon M, Vincent C, *et al.* The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95:2672-9
10. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, *et al.* PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *BioEssays* 2003;25:1106-18
11. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, *et al.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998;101(1):273-81
12. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, *et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):155-63.
13. Vossenaar ER, van Venrooij WJ. Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. *Clin Applied Immunol Rev* 2004;4:239-62.
14. Pruijn GJ, Vossenaar ER, Drijfhout JW, *et al.* Anti-CCP antibody detection facilitates early diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Current Rheumatology Reviews* 2005;1(1):1-7.
15. Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, *et al.* Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(10):2741-49
16. Nielen MM, van Schaardenbur D, Reesink HW, *et al.* Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50 (2):380-386
17. van Gaalen, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, *et al.* Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(3):709-15
18. Meyer O, Labarre C, Dougados M, *et al.* Anticitrullinated protein / peptide antibody assays in early Rheumatoid Arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:120-26
19. Forslind K, Ahlmén M, Eberhardt K, *et al.* Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1090-95
20. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, *et al.* Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1085-89
21. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al.* 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. An American College of Rheumatology/European League against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum* 2010; 62 (9):2569-81
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
23. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
24. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS document EP5-A2. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
25. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. NCCLS document EP17-A Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

Axis-Shield Diagnostics Limited

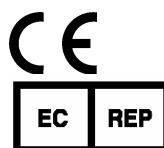
The Technology Park, Dundee DD2 1XA, UK.

Tel: +44 (0) 1382 422000,

Fax: +44 (0) 1382 422088.

E-mail: shield@axis-shield.com

Web: www.axis-shield.com



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)

Schiffgraben 41,
30175 Hannover,
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630

Fax: + (49) 511 6262 8633

IVD

In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή

REF

Αριθμός καταλόγου

LOT

Παρτίδα



96 εξετάσεις



Προσοχή



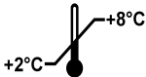
Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Προστατεύετε από το φως



Ημερομηνία λήξης



Φυλάσσετε σε θερμοκρασία 2-8°C

Rx Only

Για χρήση μόνο με συνταγή γιατρού



Κατασκευαστής

CONTROL +

Θετικός μάρτυρας

CONTROL -

Αρνητικός μάρτυρας

CONJ

Σύζευγμα

SUBS

Υπόστρωμα

SOLN STOP

Διάλυμα διακοπής

BUF WASH 10 X

Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

MTP 8 x 12

Ταινίες μικροτίτλου (αποσπώμενες)

SAMPLE DIL 5 X

Αραιωτικό δείγματος

CAL 1

Βαθμονομητής 1

CAL 2 - CAL 6

Βαθμονομητής 2-6

CONTROL REF

Μάρτυρας αναφοράς