



2 °C



8 °C



Test prosedürüne başlamadan önce lütfen kullanım talimatlarını dikkatlice okuyun.

## ENA Profil 8 ELISA

ELISA yöntemi, insan serumu veya plazmasındaki ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) karşı otoantikörlerin yarı kantitatif tayini için kullanılır .

**REF**

25023



8 x 12 Tayin

### ARKA PLAN

Sistemik otoimmün hastalıkların karakteristik bir özelliği, hücre içi yapılara karşı yöneltilmiş dolaşımdaki otoantikörlerin (AAK) varlığıdır; bu yapılar genellikle topluca ekstrakte edilebilir nükleer antijenler (ENA) olarak da adlandırılır. En önemli otoantijenler şunlardır: Çift sarmallı DNA (dsDNA), Ro, La, sentromer proteinleri (CENP), Scl-70 (topoizomeraz I), Smith antijeni (Sm), ribonükleoproteinler (RNP), Jo-1 ve PM/Scl. Çift sarmallı DNA'ya (AAK) ve Sm kompleksine karşı antikörler (AAK), sistemik lupus eritematozus (SLE) için oldukça spesifik belirteçler olarak kabul edilir ve hastaların %5-30'unda (Sm) ve %20-70'inde (dsDNA) serumda tespit edilebilir. Anti-RNP antikörleri, SLE ile ilişkili antikörler olarak kabul edilir ve diğer inflamatuvar otoimmün hastalıklarda da görülür. Sistemik skleroz (SSc), anti-Scl-70 ve anti-CENP antikörleri ile karakterize edilir. Ro52 ve La'ya (SS-B) karşı antikörler, SLE, Sjögren sendromu (SjS), karışık bağ dokusu hastalığı (MCTD) ve SSc hastalarının serumlarında tespit edilebilir. Anti-Jo-1 antikörleri ilk olarak miyozitli bir hastanın serumunda tanımlanmıştır.

### KULLANIM AMACI

ENA Profil 8 ELISA, ENA'ların yarı kantitatif tespiti için tasarlanmıştır ve bu nedenle sistemik, romatizmal otoimmün hastalıkların teşhisine katkıda bulunur.

Sıra	ENA	Hastalık ilişkisi	Yaygınlık
A	dsDNA	SLE	%20-70
B	RNP/Sm	SLE, MCTD, SSc	%5-30
C	Sm	SLE	%5-20
D	Ro52	SLE, SjS, SSc	%20-90
E	La (SS-B)	SLE, SjS	%10-30
F	Scl-70	SSc	%20-40
G	CENP-B	SSc	%10-20
H	Jo-1	Miyozit	%20-40

### TEST PRENSİBİ

ENA Profil 8 ELISA, her biri sekiz farklı antijenle kaplanmış mikrotiter şeritler (8 x 12 boşluk) içerir (tabloya bakın). Başlangıçta, hasta numuneleri (1:101 oranında seyreltilmiş), kontrol ve kalibratör (seyreltilmemiş) boşluklarda inkübe edilir. Bu süre

zarfında, serumda bulunan ENA'lar katı faza bağlı antijenlere bağlanır. Yıkama işleminden sonra, ENA'lara özgül olarak bağlanan anti-IgG at kestanesi peroksidaz (HRP) konjugatı eklenir. Fazla konjugatı uzaklaştırmak için bir yıkama döngüsü daha gerçekleştirildikten sonra substrat çözeltisi eklenir. Bu durum, substratın reaksiyona girmesine ve dolayısıyla mavi renk oluşumuna yol açar. Durdurma çözeltisinin eklenmesiyle renk, maviden sarıya dönüşür. Boyanın oluşumu, bağlı ENA miktarıyla doğru orantılıdır ve 450 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenebilir.

Hasta numuneleriyle eş zamanlı olarak, bilinen bir ENA konsantrasyonuna sahip bir kalibratör de test edilir. ENA konsantrasyonları, kalibratör ve hasta numuneleri arasındaki optik yoğunluk (OD) oranına göre yarı kantitatif olarak belirlenebilir.

### KİT BİLEŞENLERİ

Antijen kaplı mikrotitre şeritleri	MICROWELL	Şerit başına 8 antijen
Anti-IgG HRP konjugatı	CONJ HRP G	1 x 12 mL
Yıkama tamponu konsantresi	WASHBUF B 25x	1 x 50 mL
TMB Substratı	SUB TMB	1 x 12 mL
Durdurma çözeltisi (0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	STOP H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 x 12 mL
Seyreltme tamponu	DILBUF B	1 x 60 mL
Kalibratör	CAL	1 x 2 mL
Negatif kontrol	CONTROL -	1 x 2 mL
Pozitif kontrol	CONTROL +	1 x 2 mL

## KİTE DÂHİL OLMAYAN GEREKLİ MALZEMELER

Pipetler: 2 – 10 µL, 10 – 100 µL, 200 – 1000 µL, çoklu pipet, pipet uçları, numune hazırlama için reaksiyon kapları, dereceli ölçüm silindiri, koruyucu film, mikrotiter plaka fotometresi, mikrotiter plaka yıkama cihazı (isteğe bağlı).

## NUMUNE HAZIRLIĞI

Test için serum veya plazma kullanılabilir. Numuneler için herhangi bir koruyucu maddeye gerek yoktur. Kan numuneleri alındıktan sonra 2-8 °C'de saklanmalı ve mümkünse 48 saat içinde test edilmelidir. Bu mümkün değilse veya numunelerin gönderilmesi gerekiyorsa numuneler dondurulmalıdır. Tekrarlanan dondurma ve çözme işlemlerinden kaçınılması gerekmektedir. Dondurulmuş numuneleri oda sıcaklığında (20-25 °C) çözün ve kullanmadan önce iyice karıştırın. Lipaemik ve hemolitik serumlar kullanılmamalıdır.

## REAKTİF HAZIRLAMA

Tüm numuneler ve reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmelidir.

Kullanılmamış test şeritleri, nem çekici paketle birlikte dikkatlice kapatılmış alüminyum poşet içinde saklanmalıdır.

**Seyreltme tamponu:** kullanıma hazır  
**Kalibratör ve kontroller:** kullanıma hazır  
**Enzim konjugatı:** kullanıma hazır  
**Substrat çözeltisi:** kullanıma hazır  
**Durdurma çözeltisi:** kullanıma hazır

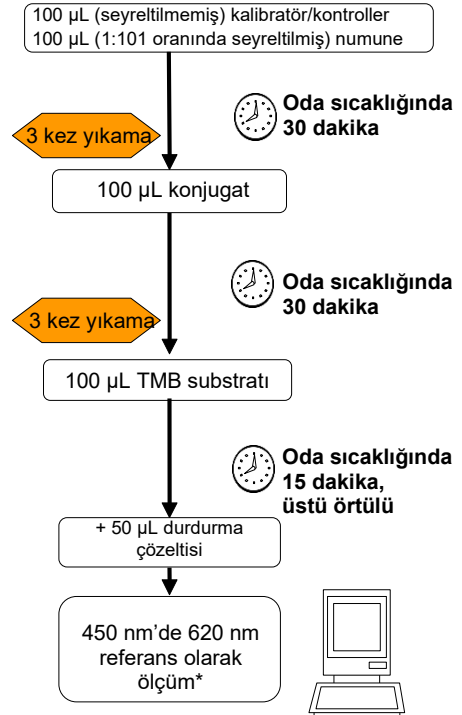
**Yıkama tamponu konsantresi:**  
Yıkama tamponu konsantresi damıtılmış su ile 1:25 oranında seyreltilir (örnek: Her bir şerit için 40 mL yıkama tampon çözeltisi gereklidir. Bunun için, 1,6 mL yıkama tamponu konsantresini damıtılmış su ile toplam 40 mL hacme kadar seyreltin. Kullanıma hazır yıkama solüsyonu, oda sıcaklığında bir hafta boyunca kullanılabilir.

## TESTİN UYGULANMASI

- Öncelikle bir test protokolü oluşturulması gerekir. Kalibratör ve en az bir kontrol numunesi tekli tayin edilir.
- Hasta numunelerini seyreltme tamponu ile **1:101 oranında** seyreltin (çift tayinde 10 µL serum + 1 mL seyreltme tamponu / tek tayinde 5 µL serum + 0,5 mL seyreltme tamponu).
- Gerekli antijen kaplı boşlukları bir çerçeveye yerleştirin. Ardından kalan şeritleri ve nem alma paketini alüminyum poşete koyarak sıkıca kapatın.
- Test protokolüne göre, kalibratör, kontrol ve seyreltilmiş hasta numunelerinin her birinden 100 µL'yi antijen kaplı şeridin her bir boşluğuna pipetleyin.
- Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.

- İnkübasyondan sonra, boşluklardaki içeriği aspire edin ve her boşluk için en az 300 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkayın. Yıkama işlemleri manuel olarak veya onaylanmış bir mikrotiter plaka yıkama cihazı ile gerçekleştirilebilir. Kalan sıvıyı hafifçe vurarak uzaklaştırın.
- Her bir boşluğa 100 µL anti-IgG-HRP konjugatı pipetleyin. Plakayı örtün ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.
- Plakayı 6. maddede belirtildiği gibi yıkayın.
- Her bir boşluğa 100 µL TMB substratı pipetleyin ve kapalı plakayı oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edin (TMB ışığa duyarlıdır).
- Substrat ekleme işleminde olduğu gibi, her bir boşluğa 50 µL durdurma çözeltisi pipetleyin. Çözeltinin, plakanın çerçevesine hafifçe vurarak boşluklarda karıştırılması önerilir. Ardından, uygun bir ELISA okuyucuda plakayı 450 nm'de ölçün (referans dalga boyu 620 nm\*). Numunelerin ve kontrollerin konsantrasyonları 3. sayfada açıklandığı gibi hesaplanır.

## TEKNİK: AI-LINE ELISA



\* 620 nm referans dalga boyuna göre ölçüm yapmak isteğe bağlıdır.

## SONUÇLARIN HESAPLANMASI

Her hasta numunesinin ve kontrol numunelerinin OD [ $\Delta$  450 nm – 620 nm] değerleri, kalibratörün OD ortalama değerine bölünür ve hesaplama faktörü ile çarpılır. **Hesaplama faktörü (F)**, partiye ve parametreye bağlıdır ve ilgili kit partisinin **kalite kontrol sertifikasından** alınır. Bundan, hasta numunesinin yorumlanması gereken sonucu ortaya çıkar. Bu değerler, kısaltması RU olan göreceli birimlerdir (*relative units*).

Formüle göre hesaplama

$$RU \text{ Hasta numunesi} = \frac{OD \text{ Numunesi}}{OD \text{ Kalibratörü}} \times F$$

Örnek hesaplama:

$$\begin{aligned} OD \text{ Kalibratörü} &= 1,9 \\ OD \text{ Numunesi} &= 0,6 \\ \text{Hesaplama faktörü F} &= 10 \end{aligned}$$

$$RU \text{ Hasta numunesi} = \frac{OD \text{ Numunesi}}{OD \text{ Kalibratörü}} \times 10$$

Değerlerin girilmesi:

$$RU \text{ Hasta numunesi} = \frac{0,6}{1,9} \times 10$$

$$RU \text{ Hasta numunesi} = 3,2 \text{ RU}$$

## SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Test sonuçlarının yorumlanması veya değerlendirilmesi için aşağıdaki değer skalası kullanılır.

< 1	RU	Olumsuz
1-1,5	RU	Sınırdaki
> 1,5	RU	Olumlu

Sınır değerler, hasta kontrollerine ve sağlıklı kan bağışçılarının dayanılarak belirlenmiştir.

## TEST GEÇERLİLİK KRİTERLERİ

Kalibratör için güven aralığı (OD cinsinden), her parametre için Kalite Kontrol sertifikasında (QCZ) belirtilen değerler aralığında olmalıdır. Kontroller için RU değerleri, QKZ'de belirtilen değerlerin kabul aralığı içinde olmalıdır. Aksi takdirde, test koşulları kontrol edilmeli ve gerekirse test tekrarlanmalıdır.

## BEKLENEN DEĞERLER

Sağlıklı kan bağışçılarının ortalama sayısı aşağıdaki gibi belirlenmiştir. Her laboratuvar kendi referans değerlerini belirlemelidir.

PARAMETRE	Ortalama değer	Standart sapma
dsDNA	0,4	0,2
RNP/Sm	0,4	0,2
Sm	0,5	0,2
SS-A / Ro52	0,3	0,1
La (SS-B)	0,2	0,1
Scl-70	0,4	0,2
CENP-B	0,2	0,1
Jo-1	0,3	0,1

## ÖLÇÜM ARALIĞI

Bu test, 0,1 ile 10 arasındaki bağıl birim (RU) aralığını kapsar.

## KESİNLİK

Varyasyon ve tekrarlanabilirlik, 3 serum üzerinde kontrol edildi. 4 kez yapılan tayinde **Test İçi** Varyasyonu %7 VK'nın altında kaldı. **Testler Arası** Varyasyon için en az 3 farklı çalışmadan elde edilen çift tayinler kullanılmıştır. VK %10'un altındaydı.

## ÖZGÜLLÜK VE HASSASİYET

Antijen	Hassasiyet	Özgüllük
dsDNA	%100 <sup>1</sup>	%100 <sup>1</sup>
RNP/Sm	%96 veya %100 <sup>1</sup>	%89,5 <sup>1</sup>
Sm	%11,2 <sup>2</sup>	%98,8 <sup>1</sup>
Ro52	%78,9 <sup>2,3</sup>	%100 <sup>1</sup>
La (SS-B)	%14,8 <sup>2,4</sup>	%100 <sup>1</sup>
Scl-70	%22 <sup>2</sup>	%100 <sup>2</sup>
CENP-B	%100 <sup>1</sup>	%97,9 <sup>1</sup>
Jo-1 <sup>1</sup>	%92 <sup>1</sup>	%99 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> analitik, <sup>2</sup> klinik, <sup>3</sup> in SjS, <sup>4</sup> in SjS

## DİĞER PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Daha ayrıntılı performans özelliklerine, ilgili parametrelerin kullanım kılavuzlarında ve ürün bilgilerinde (REF: 25003, 25004, 25005, 25006, 25008, 25009, 25010, 25011) ulaşılabilir.

## KAYNAKÇA

- Tan EM: **Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology.** *Adv Immunol* 1989, **44**:93-151.
- Mahler M, Raijmakers R, Fritzler MJ: **Challenges and Controversies in Autoantibodies Associated with Systemic Rheumatic Diseases.** *Curr Rheumatol Rev* 2007, **12**:67-78.

## ÖNEMLİ BİLGİLER

1. AB Direktifi 98/79/AT'nin Ek I'ine göre, üretici, *in vitro* tanı amaçlı tıbbi cihazların uygunluğunu, performansını ve güvenliğini sağlamak için bu cihazların kullanım amacını belirtmelidir. Bu nedenle, üretici tarafından belirtilen kullanım amacına yetkili kullanıcı grubu tarafından uyulmalıdır. Bu test kiti yalnızca kullanım amacında belirtilen amaç için tasarlanmıştır (bkz. sayfa 1).
2. Test; gerekli tüm bilgileri, güvenlik önlemlerini ve uyarıları içeren bu kullanım talimatlarına uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Test kitini teşhis cihazlarında kullanırken test yöntemi genişletilmiş bir şekilde doğrulanmalıdır. Görünüş, bileşim ve test uygulamasında herhangi bir değişiklik yapılmasına ve üretici tarafından yetkilendirilmeyen diğer ürünlerle birlikte kullanılmasına izin verilmemektedir. Bu tür değişikliklerden kullanıcı sorumludur. Üretici, bu tür nedenlerden kaynaklanan hatalı sonuçlardan ve olaylardan sorumlu değildir. Görsel değerlendirmeden kaynaklanan hatalı sonuçlar için sorumluluk kabul edilmemektedir.
3. Ürün, sadece eğitimli uzmanlar tarafından kullanılmalıdır. Hamile kadınlar test yapmamalıdır.
4. Kullanılan cihazların bakımı üreticinin talimatlarına uygun olarak düzenli olarak yapılmalı ve kullanımdan önce düzgün çalışıp çalışmadığı kontrol edilmelidir.
5. Reaktifler, *in-vitro* teşhis için tasarlanmıştır ve sadece tek kullanımlıdır. Son kullanma tarihi geçmiş olan reaktifler kullanılmamalıdır. Bu test kitinin reaktifleri ile başka üreticilerin reaktiflerini veya farklı serilere ait set bileşenlerini (istisnalar için bkz. sayfa 1) birleştirmeyin.
6. Bileşenlerin ambalajı hasarlıysa kit bileşenlerini kullanmayın. Kullanmadan önce tüm çözeltileri mikrobiyal kontaminasyon açısından gözle kontrol edin. Buharlaşmayı ve mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için kullanımdan hemen sonra şişeleri sıkıca kapatın. Aynı reaktiflerin kapaklarını karıştırmayın.
7. Test kiti, test şemasında belirtilen sıcaklıklar için doğrulanmıştır (bkz. sayfa 2). Daha yüksek veya daha düşük sıcaklıklarda sonuçlar referans aralıklarından sapabilir.
8. Yıkama prosedürü büyük önem taşımaktadır. Yetersiz yıkama yanlış sonuçlara yol açmaktadır. Çok kanallı pipetlerin ve otomatik yıkayıcıların kullanılması tavsiye edilmektedir.
9. Çapraz kontaminasyonu ve hatalı yüksek sonuçları önlemek için hasta numunelerini ve konjugatı boşluklara dikkatlice pipetleyin. Sadece temiz pipet uçları, dağıtıcılar ve laboratuvar malzemeleri kullanın.
10. İnsan kaynaklı test bileşenleri (kalibratörler ve kontroller) CE işaretli yöntemlerle anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc ve anti-HCV açısından test edilmiş ve reaktif olmadıkları bulunmuştur. Bu sonuçlara bakılmaksızın tüm insan serumu bazlı reaktifler, potansiyel bulaşıcı (biyolojik tehlikeli) olarak kabul edilmelidir.
11. Tedarikçiye göre bulaşıcı olmadığı bilinen sığır serum albümini bazı kit bileşenlerinde bulunabilir. Saptanamayan

- enfeksiyöz etkenlerin mevcut olabileceği göz önüne alındığında, hayvansal kökenli tüm ürünlerin potansiyel olarak enfeksiyöz olarak değerlendirilmesi önerilir.
12. Tüm reaktifler için aşağıdaki güvenlik kurallarına özellikle dikkat edilmesi gerekmektedir:
    - Gözünüze, cildinize veya giysilerinize temas ettirmeyin (P262). Aerosolü solumayın (P 260). Asla ağız yoluyla pipetleme yapmayın, sadece standart pipetleme yardımcılarını kullanın.
    - YUTULMASI DURUMUNDA: Ağızınızı çalkalayın. Kişiyi kusturmaya çalışmayın (P301/330/331).
    - CİLTLE (veya saçla) TEMASI DURUMUNDA: Kirlenmiş, ıslanmış tüm giysileri derhal çıkarın. Cildi su/duş ile yıkayın (P303/361/353).
    - SOLUNMASI DURUMUNDA: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve nefes almak için rahat bir pozisyonda dinlendirin (P304/340).
    - GÖZLERLE TEMAS DURUMUNDA: Birkaç dakika boyunca gözleri su ile nazıkçe durulayın. Kontakt lens varsa çıkarın. Durulamaya devam edin (P305/351/338).
    - Test esnasında yemek yemek, sigara ve içki içmek yasaktır. Reaktifleri yiyecek, içecek ve hayvan yemlerinden uzak tutun.
    - Kit reaktifleri veya hasta numuneleri ile çalışırken önlük, koruyucu gözlük ve tek kullanımlık eldiven (P280) kullanın. Kullanımdan sonra ellerinizi iyice yıkayın (P264).
    - Güvenlik bilgi formları talep üzerine temin edilebilir.
  13. Durdurma çözeltisi ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur (H314).
  14. TMB yüksek konsantrasyonlarda potansiyel olarak mutajenik olabilir. Substrat çözeltilisindeki düşük TMB konsantrasyonu nedeniyle, uygun şekilde kullanıldığında mutajenik bir etki söz konusu değildir.
  15. İçerdiği koruyucu maddeler (Bronidox L, Thimerosal, Azid) suda yaşayan canlılar için toksiktir ancak artık su için tehlikeli konsantrasyonu yoktur. Büyük miktarlardaki reaktifler bertaraf edilmeden önce su ile seyreltilmelidir. Thimerosal (WashBuf B) uzun süreli veya tekrarlı maruziyet durumunda organlarda hasara yol açabilir (H373).
  16. Serum içeren atıklar, yeterli konsantrasyonda uygun bir dezenfektan içeren atık kaplarında toplanmalıdır. Atıklar, ilgili ülkenin yönetmeliklerine uygun olarak işlenmelidir.
  17. Tıbbi Cihaz Operatörleri Yönetmeliği'ne, güncel haliyle Alman Tabipler Birliği (RiiBÄK) kılavuzuna ve "İyi Laboratuvar Tanı Uygulamaları, GLDP"ye uyulmaktadır.



### DR. FOOKE

Laboratorien GmbH

Habichtweg 16

4 1 4 6 8 Neuss

E-posta: [information@fooke-labs.de](mailto:information@fooke-labs.de)

İnternet adresi: [www.fooke-labs.de](http://www.fooke-labs.de)

Tel.: 0049-2131-2984-0

Faks: 0049-2131-2984-184

Lot Numarası	CE uygunluk işareti	<i>In-vitro</i> tanı	Sıcaklık sınırlaması	SKT	Katalog numarası	Kullanım talimatlarına uyulması gerekir	Ambalajı hasarlıysa kullanmayın	Tek kullanımlık	<n> test için yeterli içerik	Üretici firma	Biyolojik Tehlikeli