

CHORUS
PHOSPHOLIPID
SCREEN-M



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

REF 86108





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

Per la determinazione semiquantitativa degli autoanticorpi IgM anti-fosfolipidi

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli autoanticorpi di classe IgM anti-fosfolipidi nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Con l'acronimo "aPL" (anticorpi anti-fosfolipidi) si intendono impropriamente anticorpi diretti contro fosfolipidi carichi negativamente quali per esempio Cardiolipina, Fosfatidil serina, Fosfatidil inositolo, Acido fosfatidico, Fosfatidil colina, Lisofosfatidil colina e Fosfatidil etanol-ammina; secondo una accezione più corretta del termine, vanno intesi come anticorpi anti-fosfolipidi quegli anticorpi diretti contro il complesso tra β 2GPI e i fosfolipidi anionici in grado di legarsi al dominio quinto della β 2GPI. Tra questi, la Cardiolipina è il fosfolipide usato più comunemente come antigene per dosare gli aPL con metodo ELISA.

La presenza di anticorpi anti-cardiolipina in pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico (SLE) e malattie correlate è tipica di una sindrome antifosfolipidica secondaria (APS). Al contrario, gli anticorpi anti-cardiolipina in pazienti senza altre malattie autoimmuni caratterizzano la sindrome anti-fosfolipidica primaria. Numerosi studi hanno dimostrato una correlazione fra tali autoanticorpi ed una maggiore incidenza di trombosi, trombocitopenia ed aborti abituali (come conseguenza di infarto placentare).

Gli anticorpi anti-fosfolipidi sono usati meno comunemente ed il loro utilizzo aggiuntivo può aumentare la sensibilità clinica nei campioni di pazienti con sospetta Sindrome Anti-fosfolipidica (APS), ma non possono sostituire la determinazione degli autoanticorpi anti Cardiolipina.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Phospholipid Screen-M è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-fosfolipidi, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con siero umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi anti-immunoglobuline umane coniugate con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore che si sviluppa è proporzionale alla

concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in Unità Arbitrarie (AU/ml).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test marcati CE sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus/Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.

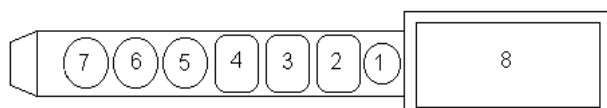
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con complessi antigenici di fosfolipidi

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina con conservante

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgM umane marcati con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.450 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-fosfolipidi e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.900 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-fosfolipidi e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	15 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	15 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	15 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE	50 µl/dispositivo
CALIBRATORE	130 µl/dispositivo
CONTROLLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Unità Arbitrarie (AU/ml) calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

Il test sul siero in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è ≥ 10 AU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 10 AU/ml

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0-80.0 AU/ml.

Per campioni > 80.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - non fornito con il kit).

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I valori attesi nella popolazione normale, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, erano compresi fra 3.0 e 5.6 AU/ml.

14. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 2 campioni (1 Negativo e 1 Positivo) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide - 220 IU/mL

Bilirubina - 45 mg/dL

Trigliceridi - 250 mg/dL

Emoglobina - 30 mg/mL

La presenza nel siero in esame delle sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

15. CROSS-REATTIVI

13 campioni, 6 positivi a CCP, 4 a RF-M e 3 a Treponema IgM sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 96 campioni con il kit Diesse ed un altro kit del commercio

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Totale	10	86	96

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100.0 % CI_{95%}: 72.2 – 99.6.

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 95.7 – 99.9.

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 1.0.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	39.1	4.3	33.3	13.0
2	14.1	8.0	20.3	12.0
3	3.8	3.4	3.3	11.5

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	32.0	12.4	32.5	14.5
2	22.2	10.7	21.4	13.5
3	3.8	3.2	3.7	21.1*

*Artefatto dovuto al noto effetto di Variazione del Coefficiente che diventa estremamente sensibile a variazioni (anche molto piccole) quando il valore di media è vicino a zero.

18. BIBLIOGRAFIA

1. Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68: 215-222.
2. Pengo V. et al., *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, vol. 70 N.1:69-76.

DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)





Italy



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

**For the semiquantitative determination of IgM
autoantibodies against phospholipids**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgM class autoantibodies against phospholipids in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

The acronym "aPL" (anti-phospholipid antibodies) indicates improperly antibodies directed against phospholipids negatively charged like for example Cardiolipin, Phosphatidyl serine, Phosphatidyl inositol, Phosphatidic acid, Phosphatidyl choline, Lyso-phosphatidyl choline and Phosphatidyl ethanolamine; more correctly the term anti-phospholipid antibodies indicate those antibodies directed against the complex between β 2GPI and anionic phospholipids that can bind to the fifth domain of β 2GPI. Among these, the Cardiolipin is the most commonly used phospholipid as an antigen for determining the aPL with ELISA method.

The occurrence of anti-cardiolipin antibodies in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and related diseases is typical of a secondary anti-phospholipid syndrome (APS). In contrast, anti-cardiolipin antibodies in patients with no other autoimmune diseases characterize the primary anti-phospholipid syndrome (APS). Many studies have shown a correlation between these autoantibodies and an enhanced incidence of thrombosis, thrombocytopenia and habitual abortions (as a consequence of placental infarct).

The antibodies against phospholipids are less commonly used, even if their use may increase the clinical sensitivity of patients samples with suspected Anti-phospholipid Syndrome (APS), but it cannot replace the determination of autoantibodies anti-Cardiolipin.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Phospholipid Screen-M device is ready to use for the detection of IgM antibodies against phospholipids, in the Chorus/ Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay). The antigen is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted human serum. After washing to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-human immunoglobulins antibodies conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated and the peroxidase substrate is added. The colour which develops is proportional to

the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The results are expressed in Arbitrary Units (AU/ml).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response by CE marked methods for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling reagents and samples.

Waste disposal: serum samples, calibrators and strips, once used, must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30-minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged. Do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use and the Instrument Operating Manual must be carefully followed.

The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

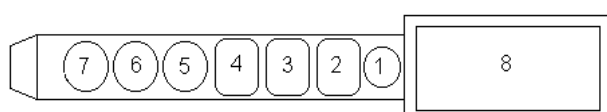
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

coated with antigenic phospholipid complexes

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: saline proteic solution with preservative

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgM monoclonal antibodies labeled with horse radish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and seal by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.450 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies against phospholipids and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.900 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies against phospholipids and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Chorus/Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the control serum (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	15 weeks at 2/8°C
CALIBRATOR	15 weeks at 2/8°C
POSITIVE CONTROL	15 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

Possible consequences, in case of use of other biological liquids, are not known.

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C and can be thawed a maximum of 3 times.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

Heat-inactivation can rise to erroneous results. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense in well no. 1 of each device the following:

SAMPLE	50 µl/device
CALIBRATOR	130 µl/device
POSITIVE CONTROL	130 µl/device

4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the control serum to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the instrument Operating Manual. If the instrument signals that the control serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

If the result of the control serum continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in Arbitrary Units (AU/ml) calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

The test on the examined serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is ≥ 10 AU/ml
NEGATIVE: when the result is < 10 AU/ml

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient. The test, indeed, cannot be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0-80.0 AU/ml.

For samples > 80.0 AU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - not supplied with the kit).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, were between 3.0 and 5.6 AU/ml.

14. ANALITICAL SPECIFICITY

2 samples (1 Negative and 1 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid factor - 220 IU/ml
Bilirubin - 45 mg/dl
Triglycerides - 250 mg/dl
Hemoglobin - 30 mg/ml

The presence in the serum sample of the interfering substances described above does not affect the test result.

15. CROSS-REACTIONS

13 samples, 6 positive to CCP, 4 to RF-M and 3 to Treponema IgM were tested.

No significant cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 96 samples have been tested with the Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Tot.	10	86	96

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0 % CI_{95%}: 72.2 – 99.6.

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 95.7 – 99.9.

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 1.0.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean AU/ml	CV%	Mean AU/ml	CV%
1	39.1	4.3	33.3	13.0
2	14.1	8.0	20.3	12.0
3	3.8	3.4	3.3	11.5

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean AU/ml	CV%	Mean AU/ml	CV%
1	32.0	12.4	32.5	14.5
2	22.2	10.7	21.4	13.5
3	3.8	3.2	3.7	21.1*

* Artifact caused by the known fault of Variation Coefficient which becomes extremely sensitive to even very small changes in the mean when the mean value is near zero.

18. REFERENCES

- Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68: 215-222.
- Pengo V. et al., *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, Vol. 70. N. 1: 69-76.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

**Pro semikvantitativní stanovení
antifosfolipidových autoprotilátek IgM**

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro semikvantitativní stanovení antifosfolipidových autoprotilátek třídy IgM v lidském séru pomocí jednorázového nástroje pro zařízení Chorus a Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Zkratkou „aPL“ (antifosfolipidové autoprotilátky) se nesprávně rozumí protilátky namířené proti negativně nabitým fosfolipidům, jako je například kardiolipin, fosfatidylserin, fosfatidylinositol, kyselina fosfatidová, fosfatidylcholin, lysofosfatidylcholin a fosfatidyl ethanol-amin; podle správnějšího výkladu tohoto termínu je třeba antifosfolipidové protilátky chápat jako protilátky namířené proti komplexu β 2GPI s aniontovými fosfolipidy schopné se vázat na pátou doménu β 2GPI. Mezi výše uvedenými kardiolipiny je fosfolipid nejčastěji používaný jako antigen pro dávkování aPL metodou ELISA.

Přítomnost antikardiolipinových protilátek u pacientů se systémovým lupus erythematoses (SLE) a s ním souvisejícími chorobami je typická pro sekundární antifosfolipidový syndrom (APS). Na druhou stranu, antikardiolipinové protilátky u pacientů bez jiných autoimunitních onemocnění charakterizují primární antifosfolipidový syndrom. Četné studie prokázaly korelaci mezi těmito autoprotilátkami a vyšším výskytem trombózy, trombocytopenie a opakovaných potratů (jako důsledek infarktu placenty).

Antifosfolipidové protilátky se používají méně často a jejich doplňkové použití může zvýšit klinickou citlivost u vzorků od pacientů s podezřením na antifosfolipidový syndrom (APS), ale nemohou nahradit stanovení antikardiolipinových autoprotilátek.

3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus Phospholipid Screen-M je připraven k použití pro stanovení antifosfolipidových protilátek IgM, za pomoci zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem. Po promytí za účelem odstranění nenavázaných proteinů se provádí inkubace s konjugátem složeným z protilátek lidských anti-imunoglobulinů konjugovaných s křenuvou peroxidázou. Dojde k odstranění nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát. Intenzita vzniklého zabarvení je přímo úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných ve zkoumaném séru.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus/Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny v arbitrárních jednotkách (AU/ml).

4. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití testů s označením CE pro stanovení přítomnosti HBsAg a protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agenti nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení se všemi reagenty a vzorky je nutné dodržovat bezpečnostní opatření běžně přijímaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými právními předpisy.

Upozornění týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus/Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyselin, ty musíte nejprve otřením vysušit. Všechny materiály použité k čištění případně potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládějte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30°C) a použijte je do 60 min.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, u nichž je při vizuální kontrole zjištěna nepřítomnost některé reagenty nebo přítomnost cizího tělesa v reagenční jamce.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus/Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.

Používání soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že je verze softwaru nainstalovaného v nástroji vyšší nebo stejná jako verze uvedená v tabulce zveřejněné na stránkách Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

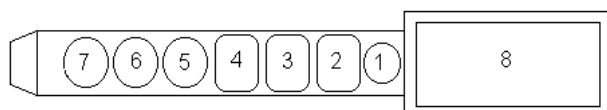
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus/Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků představujících mikrobiální znečištění.
11. Nástroj nepoužívejte po datu použitelnosti
12. Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 zařízení v každém balení

Popis:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená fosfolipidovými antigenními komplexy

Pozice 5: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Nepotažená.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0,26 mg/ml a H₂O₂ 0,01% stabilizované v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3,8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: roztok solného proteinu s konzervantem

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: monoklonální protilátky lidských anti-IgM značené peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0,05% fenol a 0,02% Bronidox.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam je přenesen vzorek

Použití: nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě, poté jej otevřete, vyjměte potřebná zařízení, ostatní vraťte do sáčku se siliciovým gelem, vypusťte vzduch a balení znovu neprodyšně uzavřete stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2/8 C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0,450 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující antifosfolipidové protilátky IgM a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0,900 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující antifosfolipidové protilátky IgM a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Zařízení Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr objemů 50–200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infekčního materiálu

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2-8 °C. Při nesprávné teplotě skladování je nutné opětovně provést kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každém komponentu a na vnějším štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	15 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	15 týdnů při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	15 týdnů při teplotě 2/8°C

7. TYP VZORKŮ A JEJICH SKLADOVÁNÍ

Vzorek je sérum získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu -20°C.

Vzorek je možné rozmrazit maximálně třikrát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.

Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace teplem může vést k chybným výsledkům. Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 každého nástroje dejte:

VZOREK	50 µl/nástroj
KALIBRÁTOR	130 µl/nástroj
POZITIVNÍ KONTROLA	130 µl/nástroj

4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus/Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle návodu k obsluze zařízení.

9. VALIDACE TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu k obsluze. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba zopakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte oddělení vědecké podpory.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Zařízení Chorus/Chorus TRIO poskytuje výsledek v arbitrárních jednotkách(AU/ml) vypočítaných na základě grafu závislého na šarži, uloženého v paměti zařízení.

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek ≥ 10 AU/ml
NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 10 AU/ml

11. OMEZENÍ TESTU

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a/nebo jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ROZSAH KALIBRACE

Rozsah kalibrace 3,0-80,0 AU/ml.

U vzorků $> 80,0$ AU/ml zopakujte test předředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (REF 83607 - není součástí soupravy).

13. REFERENČNÍ INTERVALY

Očekávané hodnoty v normální populaci stanovené vyšetřením 120 sér od zdravých dárců se pohybovaly od 3,0 do 5,6 AU/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Byly testovány 2 vzorky (1 negativní a 1 pozitivní), k nimž byly přidány následující interferenční látky:

Rheumatoidní faktor - 220 IU/ml
Bilirubin - 45 mg/dl
Triglyceridy - 250 mg/dl
Hemoglobin - 30 mg/ml

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Bylo testováno 13 vzorků, 6 CCP pozitivních, 4 RF-M a 3 Treponema IgM.

Nebyly hlášeny žádné významné zkřížené reakce

16. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo analyzováno 96 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy

Výsledky této studie shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Celkem	10	86	96

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická senzitivita):

100,0 % CI_{95%}: 72,2 - 99,6.

Negativní shoda v procentech: (~Diagnostická specifita):

100,0% CI_{95%}: 95,7 - 99,9.

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenova konstanta) dosahující 1,0.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr AU/ml	Variační koeficient (CV) %	Průměr AU/ml	Variační koeficient (CV) %
1	39,1	4,3	33,3	13,0
2	14,1	8,0	20,3	12,0
3	3,8	3,4	3,3	11,5

Vzorek	Mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr AU/ml	Variační koeficient (CV) %	Průměr AU/ml	Variační koeficient (CV) %
1	32,0	12,4	32,5	14,5
2	22,2	10,7	21,4	13,5
3	3,8	3,2	3,7	21,1*

*Artefakt daný známým efektem variačního koeficientu, který se stává extrémně citlivým na variace (i velmi malé), když se průměrná hodnota blíží nule.

18. BIBLIOGRAFIE

- Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68: 215-222.
- Pengo V. et al., *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, vol. 70 N.1:69-76.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

Para la determinación semicuantitativa de autoanticuerpos IgM antifosfolípidos

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de autoanticuerpos de tipo IgM antifosfolípidos en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Con la sigla «aPL» (anticuerpos antifosfolípidos) se identifican impropriamente anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos con carga negativa como la cardiolipina, la fosfatidilserina, el fosfatidilinositol, el ácido fosfatídico, la fosfatidilcolina, la lisofosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina. Según una acepción más correcta del término, por anticuerpos antifosfolípidos se entiende aquellos anticuerpos dirigidos contra el complejo entre β 2GPI y los fosfolípidos aniónicos capaces de unirse al quinto dominio de la β 2GPI. De estos, la cardiolipina es el fosfolípido más utilizado como antígeno para la determinación de aPL con el método ELISA.

La presencia de anticuerpos anticardiolipina en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y enfermedades relacionadas es típica de un síndrome antifosfolipídico secundario (APS). Por el contrario, los anticuerpos anticardiolipina en pacientes sin otras enfermedades autoinmunes caracterizan el síndrome antifosfolipídico primario. Numerosos estudios han demostrado que existe una correlación entre estos autoanticuerpos y una mayor incidencia de trombosis, trombocitopenia y abortos espontáneos (como consecuencia del infarto de la placenta).

Los anticuerpos antifosfolípidos se utilizan con menos frecuencia, aunque su empleo adicional puede aumentar la sensibilidad clínica en muestras de pacientes en que se sospecha la síndrome antifosfolipídica (APS), pero no pueden reemplazar la determinación de los autoanticuerpos anticardiolipina.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Phospholipid Screen-M está listo para su uso y sirve para la determinación de anticuerpos IgM antifosfolípidos en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

La prueba está basada en el principio ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas). El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido, las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno. Tras varios lavados destinados a eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado,

compuesto por anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas con peroxidasa de rábano. El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato para la peroxidasa. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero analizado.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos necesarios para realizar la prueba en equipos Chorus/Chorus TRIO.

Los resultados están expresados en unidades arbitrarias (UA/ml).

4. PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en pruebas con el marcado CE para la presencia de HBsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y, por consiguiente, deben desecharse conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Advertencias para la seguridad personal

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para limpiar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Una sola exposición a la solución de hipoclorito de sodio al 1 % de 30 minutos de duración debería bastar para garantizar una desinfección eficaz.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si hay ácido, no deberá utilizarse hipoclorito de sodio hasta que se haya secado la zona. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames accidentales, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) y usarlos en 60 minutos.

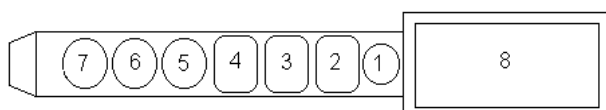
1. **Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Comprobar que el equipo Chorus/Chorus TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado a la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con complejos antígenos de fosfolípidos

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: 0,26 mg/ml de tetrametilbencidina y H₂O₂ al 0,01% estabilizados en 0,05 mol/l de tampón citrato (pH 3.8)

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución proteica salina con conservante

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpos monoclonales anti-IgM humanos marcados con peroxidasa, en solución tampón fosfato que contiene fenol al 0,05 % y Bronidox al 0,02 %.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente, abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM antifosfolípidos y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,900 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM antifosfolípidos y conservante. Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF.] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF.] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF.] 83607
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio al 5%
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el suero de control (ver capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad aparece en cada componente y en la etiqueta del exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren o preparan:

DISPOSITIVOS	15 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	15 semanas a 2/8 °C
CONTROL POSITIVO	15 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20 °C.

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La inactivación por calor puede conducir a resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Dispensar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	130 µl/dispositivo

4. Introducir los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario volver a realizar la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, ponerse en contacto con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo Chorus/Chorus TRIO calcula el resultado en función de un gráfico por lotes guardado en su memoria y proporciona el resultado en unidades arbitrarias (AU/ml).

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es ≥ 10 AU/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es < 10 AU/ml

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del paciente.

Esta prueba no debe ser la única para determinar un diagnóstico clínico; debe evaluarse junto con los datos del historial clínico del paciente y otros exámenes diagnósticos.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3,0-80,0 AU/ml.

Para las muestras $> 80,0$ AU/ml repetir la prueba diluyéndolas previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

13. INTERVALOS DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 3,0 y 5,6 AU/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Fueron analizadas 2 muestras (1 Negativa y 1 Positiva) a las que se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide - 220 IU/ml
Bilirrubina - 45 mg/dl
Triglicéridos - 250 mg/dl
Hemoglobina - 30 mg/ml

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero no altera el resultado de la prueba.

15. REACCIONES CRUZADAS

Se probaron 13 muestras, 6 positivas en CCP, 4 en RF-M y 3 en Treponema IgM.

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 96 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Total	10	86	96

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de diagnóstico):

100,0 % CI₉₅ %: 72,2 – 99,6.

Percent Negative Agreement (~Especificidad de diagnóstico):

100,0 % CI₉₅ %: 95,7 – 99,9.

El grado de concordancia entre ambos métodos es óptimo con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 1,0.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media AU/ml	CV %	Media AU/ml	CV %
1	39,1	4,3	33,3	13,0
2	14,1	8,0	20,3	12,0
3	3,8	3,4	3,3	11,5

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media AU/ml	CV %	Media AU/ml	CV %
1	32,0	12,4	32,5	14,5
2	22,2	10,7	21,4	13,5
3	3,8	3,2	3,7	21,1*

*Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los cambios (incluso a los más pequeños) cuando el valor promedio está cerca de cero.

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68: 215-222.
2. Pengo V. et al., *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, vol. 70 N.1:69-76.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIONS D'UTILISATION

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

Pour la détermination semi-quantitative des auto-anticorps IgM antiphospholipides

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps IgM antiphospholipides dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux analyseurs Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'acronyme "aPL" (anticorps antiphospholipides) fait indûment référence aux anticorps dirigés contre les phospholipides chargés négativement, tels que la cardiolipine, la phosphatidylsérine, le phosphatidylinositol, l'acide phosphatidique, la phosphatidylcholine, la lysophosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine ; dans un sens plus correct du terme, les anticorps antiphospholipides sont les anticorps dirigés contre le complexe entre la β 2GPI et les phospholipides anioniques capables de se lier au cinquième domaine de β 2GPI. Parmi ceux-ci, la cardiolipine est le phospholipide utilisés principalement comme antigène pour le dosage des aPL par la méthode ELISA.

La présence d'anticorps anticardiolipine chez les patients atteints de lupus érythémateux systémique (LED) et de maladies connexes est typique d'un syndrome des antiphospholipides secondaire (SAPL). En revanche, les anticorps anticardiolipine chez les patients ne souffrant pas d'autres maladies auto-immunes caractérisent le syndrome des antiphospholipides primaire. De nombreuses études ont montré une corrélation entre ces auto-anticorps et une incidence plus élevée de thrombose, de thrombocytopénie et de fausses couches (à la suite d'un infarctus placentaire).

Les anticorps antiphospholipides sont moins couramment utilisés et leur utilisation supplémentaire peut augmenter la sensibilité clinique des échantillons provenant de patients suspectés de syndrome des antiphospholipides (SAPL), mais ils ne peuvent remplacer le dosage d'auto-anticorps anticardiolipine.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus Phospholipid Screen-M est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps IgM antiphospholipides avec les analyseurs Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, c'est-à-dire un dosage immuno-enzymatique sur support solide). L'antigène se lie à la phase solide. Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène après incubation en présence de sérum humain dilué. Après élimination des protéines non réactives par lavage, le conjugué

constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines conjuguées à la peroxydase de raifort est incubé. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté. La coloration qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum examiné.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à l'exécution du test lorsqu'ils appliqués sur les appareils Chorus/Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en unités arbitraires (UA/mL).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et jugées négatives avec des tests portant le marquage CE pour la recherche de HbsAg et des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme étant potentiellement infectée. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité habituellement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements relatifs à la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium afin d'obtenir une concentration finale de 1 % minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution à 1 % est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels déversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

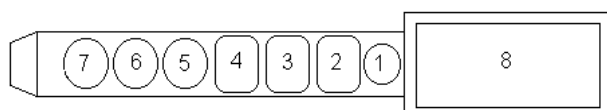
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puit.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présente des corps étrangers dans le puit de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur Chorus/Chorus TRIO, en respectant scrupuleusement les Instructions d'Utilisation et le Manuel de l'Utilisateur de l'instrument.
Le kit peut uniquement être utilisé avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé dans l'appareil est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site DIESSE
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. S'assurer que l'analyseur Chorus/Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel de l'Utilisateur).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Éviter l'emploi de congélateurs auto-dégivrants pour la conservation des échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'analyseur (voir Manuel de l'Utilisateur).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une pollution microbienne peut être une source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
12. **Contrôler si l'analyseur est connecté à la Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 boîtes contenant 6 dispositifs chacune

Description :



Position 8 : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code à barres

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé aux complexes antigènes phospholipidiques

Position 5 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 0,26 mg/mL et H₂O₂ 0,01 % stabilisés en tampon citraté 0,05 mol/L (pH 3,8)

Position 3 : DILUANT POUR ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution protéique saline avec conservateur

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgM humains marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0,05 % et Bronidox 0,02 %.

Position 1 : PUIITS VIDE

Où l'échantillon a été transféré

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et replacer ceux non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8° C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0,450 ml

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM antiphospholipides et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,900 ml

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM antiphospholipides et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS ET NON FOURNI :

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **RÉF** 86004
- SOLUTION DE NETTOYAGE 2000 **RÉF** 83609
- SOLUTION DÉSINFECTANTE **RÉF** 83604 - 83608
- CONTRÔLE NÉGATIF/DILUANT POUR ÉCHANTILLON **RÉF** 83607
- Analyseur Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µL.
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour le recueil de matières potentiellement infectées

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à +2-8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

DISPOSITIFS	15 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	15 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	15 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et préparés selon les procédures standards de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à - 20 °C.

L'échantillon peut être décongelé jusqu'à un maximum de 3 fois. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

L'inactivation par chaleur peut induire de faux résultats. La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne qui peut induire de faux résultats.

8. PROCÉDURE

- Ouvrir le sachet (du côté de la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir expulsé l'air.
- Contrôler l'état du dispositif à l'oeil nu comme indiqué au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
- Distribuer dans le puits n°1 de chaque appareil :

ÉCHANTILLON	50 µl/dispositif
CALIBRATEUR	130 µl/dispositif
CONTRÔLE POSITIF	130 µl/dispositif

- Introduire les dispositifs dans l'analyseur Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'analyseur.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en le traitant comme indiqué dans le Manuel de l'utilisateur de l'analyseur. Si l'analyseur signale que le sérum de contrôle a une valeur hors tolérance, il est nécessaire d'effectuer un nouveau calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle reste hors tolérance, contacter l'Assistance Scientifique.

Tél. : 0039 0577 319554
Télécopie : 0039 0577 366605
email : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en unités arbitraire (UA/mL) calculé sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Le dosage du sérum examiné peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est ≥ 10 UA/mL

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 10 UA/mL

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient lui-même.

De fait, le dosage ne peut être utilisé seul pour poser un diagnostic clinique et son résultat doit être évalué avec les données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres analyses diagnostiques.

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage 3,0-80,0 UA/mL.

Pour les échantillons $> 80,0$ UA/mL, répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans un diluant de contrôle/échantillon négatif (RÉF. 83607- non fourni avec le kit).

13. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées après examen de 120 sérums provenant de donneurs sains, sont comprises entre 3,0 et 5,6 UA/mL.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

2 échantillons ont été dosés (1 négatif et 1 positif) auxquels ont été ajoutés les substances interférentes suivantes :

Facteur rhumatoïde - 220 IU/mL

Bilirubine - 45 mg/dL

Triglycérides - 250 mg/dL

Hémoglobine - 30 mg/mL

La présence dans le sérum examiné des substances interférentes susmentionnées n'altère pas le résultat du test.

15. RÉACTIONS CROISÉES

13 échantillons, 6 CCP positifs, 4 RF-M positifs et 3 Treponema IgM positifs ont été dosés.

Aucune réaction croisée significative n'a été observée.

16. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 96 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et un autre kit du commerce.

Les résultats de l'étude sont résumés ci-dessous :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Total	10	86	96

Pourcentage de concordance positif (~Sensibilité diagnostique) :

100,0 % CI_{95%}: 72,2 – 99,6

Pourcentage de concordance négatif (~Sensibilité diagnostique) : 100,0% CI_{95%}: 95,7 – 99,9

Le degré de concordance entre les deux méthodes s'avère optimal avec un coefficient Kappa (Constante de Cohen) de 1,0.

17. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Inter-séances	
	Moyenne UA/mL	CV %	Moyenne UA/mL	CV %
1	39,1	4,3	33,3	13,0
2	14,1	8,0	20,3	12,0
3	3,8	3,4	3,3	11,5

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne UA/mL	CV %	Moyenne UA/mL	CV %
1	32,0	12,4	32,5	14,5
2	22,2	10,7	21,4	13,5
3	3,8	3,2	3,7	21,1*

*Artefact dû à l'effet connu de la variation du coefficient qui devient extrêmement sensible aux variations (même très faibles) lorsque la valeur moyenne est proche de zéro.

18. BIBLIOGRAPHIE

1. Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68 : 215-222.
2. Pengo V. et al. *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, vol. 70 N.1:69-76.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS PHOSPHOLIPID SCREEN-M

Para a determinação semiquantitativa de autoanticorpos IgM antifosfolípidos

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos da classe IgM anti-fosfolípidos em soro humano com dispositivo de utilização única aplicado aos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O acrônimo "aPL" (autoanticorpos antifosfolípidos) indica de forma não apropriada anticorpos contra fosfolípidos com carga negativa, como Cardiolipine, Fosfatidil-serina, Fosfatidil inositol, Ácido fosfatídico, Fosfatidilcolina, Lisofosfatidilcolina e Fosfatidiletanolamina; de acordo com uma aceção mais correta do termo, os anticorpos anti-fosfolípidos são aqueles anticorpos dirigidos contra o complexo entre β 2GPI e fosfolípidos aniônicos capazes de se ligarem ao quinto domínio de β 2GPI. Entre estes, a Cardiolipina é o fosfolípido mais utilizado como antígeno para a determinação ELISA de aPL.

A presença de anticorpos anticardiolipina em doentes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e doenças relacionadas é típica de uma síndrome antifosfolipídica secundária (SAF). Ao contrário, os anticorpos anticardiolipina em doentes sem outras doenças autoimunes caracterizam a síndrome antifosfolipídica primária. Numerosos estudos mostraram uma correlação entre estes autoanticorpos e uma maior incidência de trombose, trombocitopenia e abortos (como consequência de um enfarte placentário).

Os anticorpos antifosfolípidos são menos utilizados e o seu uso adicional pode aumentar a sensibilidade clínica em amostras de doentes com suspeita de Síndrome Antifosfolipídica (SAF), mas não podem substituir a determinação de autoanticorpos anticardiolipina.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Phospholipid Screen-M está pronto a usar para determinar os anticorpos IgM anti-fosfolípidos, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno liga-se à fase sólida. As imunoglobulinas específicas são ligadas ao antígeno após a incubação com soro humano diluído. Após lavagens para eliminar as proteínas que não tenham reagido, realiza-se a incubação com o conjugado composto por anticorpos anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o

substrato para a peroxidase. A cor azul que se desenvolve é proporcional à concentração de anticorpos específicos presentes no soro de teste.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes necessários para efetuar o teste nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

Os resultados são expressos em Unidades arbitrárias (UA/ml).

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contém materiais de origem humana testados e negativos com testes com marcação CE ao HBsAg e aos anticorpos anti-VIH 1, anti-VIH 2 e anti-VHC. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e, portanto, eliminados de acordo com as normas de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a ficha de segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Exposição a hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se houver algum ácido presente, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes da referida área estar seca. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes de utilizar, por à temperatura ambiente (18-30 °C) os dispositivos que vão ser usados e utilizar dentro de 60 minutos.

1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após

verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.

4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

O uso do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou é superior à Release (Rel.) mostrada na tabela publicada no site da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

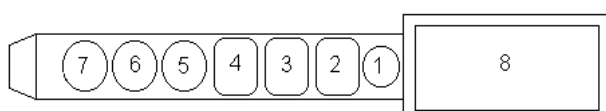
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus/Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras imperfeitos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
12. **Verificar se o instrumento tem ligação estabelecida com a Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens com 6 dispositivos cada uma

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com complexos antigénicos de fosfolípidos

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0,26 mg/mL e H₂O₂ 0,01% estabilizados em tampão citrato 0,05 mol/L (pH 3,8)

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: solução de proteína salina com conservante

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgM humano marcados com peroxidase, em solução tampão de fosfato contendo fenol 0,05% e Bronidox 0,02%.

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém sílica-gel, expulsar o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Conteúdo: Soro humano diluído com anticorpos IgM antifosfolípidos e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,900 ml

Conteúdo: Soro humano diluído com anticorpos IgM antifosfolípidos e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infectados

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo exterior da embalagem.

Após abertura e/ou preparação, os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	15 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	15 semanas a 2/8 °C
CONTROLO POSITIVO	15 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos normalizados de laboratório.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A inativação por calor pode levar a resultados errados. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual do Utilizador do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro controlo positivo, para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o soro de controlo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar o Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado expresso em Unidades Arbitrárias (UA/mL) calculado com base num gráfico dependente do lote que está memorizado no instrumento.

O teste no soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for ≥ 10 UA/ml

NEGATIVO quando o resultado for <10 UA/ml

11. LIMITES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescindir de outros indicadores relativos ao mesmo doente.

Na verdade, o teste por si só não pode ser usado para diagnóstico clínico. O resultado do teste deve ser avaliado em conjunto com dados obtidos da anamnese do doente e/ou de outros exames de diagnóstico.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3,0-80,0 UA/ml.

Para amostras $> 80,0$ UA/ml repetir o teste pré-diluindo a amostra em Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - não fornecido com o kit).

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados pelo exame de 120 soros de doadores saudáveis, estavam entre 3,0 e 5,6 UA/ml.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 2 amostras (1 Negativa e 1 Positiva) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide - 220 IU/ml

Bilirrubina - 45 mg/dl

Triglicéridos - 250 mg/dl

Hemoglobina - 30 mg/ml

A presença das substâncias interferentes acima referidas no soro examinado não altera o resultado do teste.

15. REATIVIDADE CRUZADA

Foram testadas 13 amostras, 6 positivas a CCP, 4 RF-M positivas e 3 a Treponema IgM.

Não foram detetadas reações cruzadas significativas

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 96 amostras com o kit Diesse e com outro kit comercializado

Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	10	0	10
	-	0	86	86
	Total	10	86	96

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade de diagnóstico):

100.0 % CI_{95%}: 72,2 – 99,6.

Percent Negative Agreement: (~Especificidade de diagnóstico):

100.0% CI_{95%}: 95,7 – 99,9.

O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 1,0.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média UA/ml	CV%	Média UA/ml	CV%
1	39,1	4,3	33,3	13,0
2	14,1	8,0	20,3	12,0
3	3,8	3,4	3,3	11,5

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média UA/ml	CV%	Média UA/ml	CV%
1	32,0	12,4	32,5	14,5
2	22,2	10,7	21,4	13,5
3	3,8	3,2	3,7	21,1*

*Artefato resultante do conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível a variações (mesmo muito pequenas) quando o valor médio está próximo de zero.

18. BIBLIOGRAFIA

1. Harris E.N. et al. *Evaluation of the anti-Cardiolipin antibody test: report of an international Workshop held 4 April 1986*. 1987; Clin. Exp. Immunol. 68: 215-222.

2. Pengo V. et al., *Immunological Specificity and Mechanism of Action of IgG Lupus Anticoagulants*. 1987; Blood, vol. 70 N.1:69-76.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy



	IT Data di fabbricazione	ES Fecha de fabricación
	EN Date of manufacture	FR Date de fabrication
	CZ Datum výroby	PT Data de fabrico
	DE Herstellungsdatum	RO Data fabricatiei
	GR Ημερομηνία Παραγωγής	
	IT Utilizzare entro	ES Fecha de caducidad
	EN Use By	FR Utiliser jusqu'e
	CZ Použitelné do	PT Prazo de validade
	DE Verwendbar bis	RO A se folosi pana la
	GR Ημερομηνία λήξης	
	IT Non riutilizzare	ES No reutilizar
	EN Do not reuse	FR Ne pas réutiliser
	CZ Nepoužívejte opakovaně	PT Não reutilizar
	DE Nicht wieder verwenden	RO A nu se refolosi
	GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση	
	IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES Atención, ver instrucciones de uso
	EN Caution, consult accompanying documents	FR Attention voir notice d'instructions
	CZ Pozor, čtěte příložené dokumenty	PT Atenção, consulte a documentação incluída
	DE Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO Atentie, consultați documentele însoțitoare
	GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα	
	IT Fabbricante	ES Fabricante
	EN Manufacturer	FR Fabricant
	CZ Výrobce	PT Fabricante
	DE Hersteller	RO Productator
	GR Κατασκευαστής	
	IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN Contains sufficient for <n> tests	FR Contenu suffisant pour "n" tests
	CZ Obsah stačí na <n> testů	PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	DE Inhalt reicht für „n“ Tests	RO Continut suficient pt <n> teste
	GR Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	
	IT Limiti di temperatura	ES Límite de temperatura
	EN Temperature limitation	FR Limites de température
	CZ Teplotní omezení	PT Limites de temperatura
	DE Temperaturgrenzwerte	RO Limita da temperatura
	GR Περιορισμοί θερμοκρασίας	
	IT Consultare le istruzioni per l'uso	ES Consulte las instrucciones de uso
	EN Consult Instructions for Use	FR Consulter les instructions d'utilisation
	CZ Čtěte návod k použití	PT Consulte as instruções de utilização
	DE Die Gebrauchsanleitung lesen	RO Pentru a utiliza consultați instrucțiunile
	GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	
	IT Rischio biologico	ES Riesgo biológico
	EN Biological risks	FR Risques biologiques
	CZ Biologická rizika	PT Risco biológico
	DE Biologisches Risiko	RO Risk biologic
	GR Βιολογικοί κίνδυνοι	
	IT Numero di catalogo	ES Número de catálogo
	EN Catalogue number	FR Référence du catalogue
	CZ Katalogové číslo	PT Referência de catálogo
	DE Katalognummer	RO Numar de catalog
	GR Αριθμός καταλόγου	
	IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CZ Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro
	GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	
	IT Codice del lotto	ES Código de lote
	EN Batch code	FR Code du lot
	CZ Kód šarže	PT Código do lote
	DE Chargennummer	RO Lot
	GR Αριθμός Παρτίδας	