

CHORUS

LKM-1

REF 86080

REF 86080/12



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.

Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Změny zavedené v aktuální revizi Αλλαγές που εισήχθησαν στην τρέχουσα αναθεώρηση Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Mudanças introduzidas na revisão atual	5, 13, 14, 15, 16





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS LKM-1

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-microsomi epatici e renali (LKM)

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-microsomi epatici e renali (LKM) nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

L'epatite autoimmune (AIH) è una malattia epatica progressiva di origine sconosciuta, che risponde bene a terapia immunosoppressiva, ma che, se non curata, ha una prognosi negativa. Una diagnosi sicura e precoce riveste pertanto un ruolo di fondamentale importanza. L'AIH è caratterizzata dal quadro istologico di un'epatite periportale in assenza di marker virali, da un'ipergammaglobulinemia e nella maggioranza dei pazienti, dalla presenza di autoanticorpi nel siero. Gli anticorpi anti-nucleo (ANA), gli anticorpi anti-muscolatura liscia (SMA, smooth muscle antibodies), gli anticorpi anti-microsomi epatici e renali (LKM, liver-kidney microsomes) e gli anticorpi anti-antigene epatico solubile (SLA, soluble liver antigen), sono anticorpi marcatori per l'AIH. Il 52% dei pazienti AIH è ANA e/o SMA positivo, il 20% SLA positivo e il 3% presenta anticorpi anti-LKM-1. Tutti questi anticorpi sono molto importanti per la diagnosi di un'AIH, tuttavia fino ad ora sono risultati altamente specifici per l'AIH solo gli autoanticorpi anti-SLA. Gli ANA/SMA vengono riscontrati nel 10-15% dei pazienti affetti da epatite virale o altre malattie immunomediate. Gli LKM-1 si trovano anche in pazienti con epatite C.

Gli anticorpi anti-LKM possono essere suddivisi in tre tipi in relazione ai rispettivi antigeni target. Gli anticorpi anti-LKM-1 sono diretti contro il citocromo p450 IID6, una proteina citoplasmatica di 50 kDa che si trova negli epatociti e nei tubuli renali prossimali. Gli anticorpi LKM-2 sono associati all'epatite indotta da ticrynafen. L'antigene target degli LKM-2 è il citocromo p450 IIC9, un isoenzima del citocromo p450, che induce l'ossidazione metabolica del farmaco. Gli anticorpi anti-LKM-3 sono associati all'epatite cronica D e il loro antigene target è l'UDP-glucuronosil-transferasi.

L'AIH associata ad anti-LKM-1 insorge prevalentemente in età infantile, soprattutto nelle bambine di età compresa fra 2 e 14

anni. La determinazione degli anticorpi anti-LKM-1 è quindi di fondamentale importanza in pediatria.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus LKM-1 è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-microsomi epatici e renali (LKM), 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 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.
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 (REF 86080).

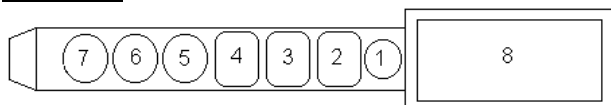
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86080/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86080).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86080/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con citocromo p450 IID6 ricombinante.

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina stabilizzata in tampone citrato

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%).

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgG umane marcati con perossidasi.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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 0.175 mL

Contenuto: Soluzione proteica contenente anticorpi specifici capaci di legare la micropiastra e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenuto: Soluzione proteica contenente anticorpi specifici capaci di legare la micropiastra 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	8 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	8 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 sbrinatori 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 50 µl di siero non diluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione 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 > 18 AU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 12 AU/ml

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 12 e 18 AU/ml

In caso di risultato dubbio/equivoco ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo.

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 3.0-300 AU/ml.

Per campioni > 300 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. SPECIFICITA' ANALITICA

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

Fattore Reumatoide (44 IU/ml – 220 IU/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Emoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

14. CROSS-REATTIVI

15 campioni, positivi a AMA-M2, SMA e HCV sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 263 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	4	0	4
	-	0	259	259
	Totale	4	259	263

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 51.0-99.4

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 98.5-100.0

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 1.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	3.8	12.4	3.0	14.3
2	37.1	10.8	33.9	8.7
3	59.5	11.2	61.3	13.5

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	5.0	3.4	3.4	14.1
2	39.7	8.0	30.2	13.9
3	72.0	11.1	59.3	14.2

17. BIBLIOGRAFIA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS LKM-1

For the semi-quantitative determination of anti-liver-kidney microsomal IgG antibodies (LKM)

Only for *in vitro* diagnostic use

1. USE

Enzyme immunoassay for the semi-quantitative determination of anti-liver-kidney microsomal IgG class antibodies (LKM) in human serum with a single-use device applied to Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Autoimmune hepatitis (AIH) is a progressive liver disease of unknown origin, which responds well to immunosuppressive therapy, but which, if not treated, has a negative prognosis. An accurate and early diagnosis therefore plays a fundamental role. AIH is characterised by the histological picture of periportal hepatitis in the absence of viral markers, by hypergammaglobulinemia and in most patients, by the presence of autoantibodies in the serum. Anti-nuclear antibodies (ANA), smooth muscle antibodies (SMA), anti-liver-kidney microsomal (LKM, liver-kidney microsomes) antibodies, and antibodies against soluble liver antigen (SLA) are marker autoantibodies for AIH. 52% of AIH patients are ANA and/or SMA positive, 20% SLA positive and 3% have anti-LKM-1 antibodies. All these antibodies are very important for diagnosing an AIH, however, so far only Anti-Soluble-Liver-Antigens have been highly specific for AIH. ANAs/SMA are found in 10-15% of patients with viral hepatitis or other immune-mediated diseases. LKM-1s are also found in patients with hepatitis C.

Anti-LKM antibodies can be divided into three types in relation to their respective target antigens. Anti-LKM-1 antibodies are directed against cytochrome p450 IID6, a 50 kDa cytoplasmic protein found in hepatocytes and renal proximal tubular cells. LKM-2 antibodies are associated with ticrynafen-induced hepatitis. The target antigen of LKM-2 is the cytochrome p450 IIC9, a cytochrome p450 isoenzyme, which catalyses the metabolic oxidation of the drug. Anti-LKM-3 antibodies are associated with chronic hepatitis D and their target antigen is UDP-glucuronosyltransferase.

AIH associated with anti-LKM-1s occurs predominantly in childhood, especially in girls aged 2 to 14 years. The determination of anti-LKM-1 antibodies is therefore of paramount importance in paediatrics.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus LKM-1 device is ready for use to determine anti-liver-kidney microsomal IgG class antibodies (LKM) in Chorus/Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) principle. The antigen is bound to the solid phase. Specific immunoglobulins bind to the antigen following incubation with diluted human serum. After washing to remove unreacted proteins, incubation is performed with the conjugated compound consisting of human anti-immunoglobulin antibodies conjugated to horseradish peroxidase. The unbound conjugate is removed and the substrate for the peroxidase is added. The colour that develops is proportional to the concentration of specific antibodies in the serum under examination.

The single-use 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. PRECAUTIONS

ONLY FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE.

This kit contains materials of human origin which have been tested and found negative for both HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. Since no diagnostic test can offer a complete guarantee on the absence of infectious agents, any material of human origin must be considered potentially infected. All reagents and samples must be handled in accordance with the safety standards normally adopted in the laboratory.

Disposal of residues: the serum samples, calibrators and the strips used must be treated as infected residues, therefore disposed of in accordance with the provisions of current laws.

Personal safety warnings

1. Do not pipette with your mouth.
2. Use single-use gloves and eye protection when handling samples.
3. Wash your hands thoroughly after inserting the devices into the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on request) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralised acids and other liquid waste must be disinfected by adding sodium hypochlorite in a volume sufficient to obtain a final concentration of at least 1%. Exposure to 1% hypochlorite sodium for 30 minutes should be sufficient to ensure effective disinfection.
6. Any spillage of potentially infected materials must be removed immediately with absorbent paper and the contaminated area must be decontaminated, for example with 1% hypochlorite sodium, before continuing work. If an acid is present, sodium hypochlorite must not be used before the area has been dried. All materials used to decontaminate any accidental spillage, including gloves, must be discarded as potentially infected waste. Do not autoclave materials containing hypochlorite sodium.

Analytical warnings

Before use, bring the devices to be used to room temperature (18-30°C) and use within 60 minutes.

1. **Discard the devices with blue coloured substrate (well 4).**
2. When adding the sample to the well, check that it is perfectly distributed at the bottom.
3. Check the actual presence of reagents in the device and the integrity of the device itself. Do not use devices that lack any reagents and/or that have any foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices must be used in conjunction with the Chorus/Chorus TRIO instrument, strictly following the Instructions for Use and the User Manual of the instrument.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set correctly (see User Manual).
6. Do not alter the barcode placed on the handle of the device in order to allow it to be read correctly by the instrument.
7. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.
8. Defective barcodes can be manually entered into the instrument (see User Manual).
9. Do not expose the devices to strong lighting or hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of heavily haemolysed, lipemic, icteric, non-fully coagulated serum samples or of samples with microbial contamination may be a source of errors.
11. Do not use the device after its expiry date
12. **Check that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSITION OF THE KIT AND PREPARATION OF REAGENTS

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86080).

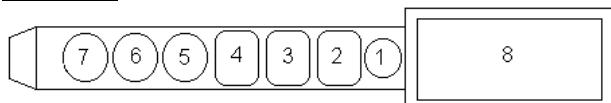
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86080/12).

DD DEVICES

6 packs of 6 devices each (REF 86080).

2 packs of 6 devices each (REF 86080/12).

Description:



Position 8: Space available for barcode label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Sensitised with recombinant cytochrome p450 IID6.

Position 5: MICROPLATE WELL

Not sensitised.

Position 4: TMB SUBSTRATE

Content: Tetramethylbenzidine stabilised in citrate buffer

Position 3: DILUENT FOR SAMPLES

Content: saline protein solution containing Proclin (0.1%).

Position 2: CONJUGATE

Content: Peroxidase-labelled monoclonal anti-human IgG antibodies.

Position 1: EMPTY WELL

Where the user must dispense the undiluted serum.

Usage: bring a bag to room temperature, open the bag, pick up the necessary devices; store the others in the bag containing the silica gel, let the air out and **seal** by pressing on the closure. Store at 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Content: Protein solution containing specific antibodies capable of binding the microplate and preservative. Liquid, ready to use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

Content: Protein solution containing specific antibodies capable of binding the microplate and preservative. Liquid, ready to use.

OTHER MATERIAL REQUIRED, BUT NOT SUPPLIED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITISING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/DILUENT SAMPLE (REF 83607)
- Chorus/Chorus TRIO instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test tubes, etc.
- Micropipettes capable of accurately withdrawing volumes of 50-200 µl.
- Single-use gloves
- 5% sodium hypochlorite solution
- Containers for the collection of potentially infected materials

6. METHOD OF STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the event of an incorrect storage temperature, the calibration must be repeated and the correctness of the result checked using the control serum (see chapter 9: Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the outer label of the package.

Reagents have limited stability after opening and/or preparation:

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

7. SAMPLE TYPE AND STORAGE

The sample type is serum obtained from blood collected by normal venous blood sampling and handled as required by standard laboratory procedures.

The consequences of using other body fluids are unknown.

Fresh serum can be kept for 4 days at 2/8°C; for longer storage periods, freeze at -20°C.

The sample can undergo up to a maximum of 3 thaws.
Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage. After thawing, carefully shake the sample before dosing.
Heat inactivation may give erroneous results. Sample quality can be seriously affected by microbial contamination which can lead to erroneous results.

8. PROCEDURE

1. Open the bag (side containing the snap closure), take the number of devices needed to perform the tests and store the others by closing the bag after letting the air out.
2. Visually check the status of the device according to the instructions in chapter 4 Analytical Warnings.
3. Add 50µl of undiluted serum to be analysed to well no. 1, at each batch change use a calibrator device.
4. Introduce the devices on the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if required) and the test as reported in the Instruction Manual of the instrument.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control serum to verify the correctness of the result obtained, processing it as indicated in the User Manual of the instrument. If the instrument indicates that the control serum has a value falling outside the acceptability limit, the calibration must be performed again. Previous results will be corrected automatically.

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

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

10. INTERPRETATION OF THE TEST

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

The test on the serum under examination can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 18 AU/ml

NEGATIVE: when the result is <12 AU/ml

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the result is between 12 and 18 AU/ml

In case of doubtful/equivocal result, repeat the test. If the result remains doubtful/equivocal, repeat the sampling.

11. TEST LIMITATIONS

All values obtained require a careful interpretation, without ever disregarding other indicators relating to the same patient.

The test, in fact, cannot be used on its own for a clinical diagnosis and the result of the test must be evaluated together with data from the patient's medical history and/or from other diagnostic investigations.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0-300 AU/ml.

For samples > 300 AU/ml repeat the test, pre-diluting the sample with the Negative Control/Sample Diluent (PF83607- not supplied with the kit).

13. ANALYTICAL SPECIFICITY

2 samples were tested (1 Negative, 1 Positive) to which the following interfering agents were added:

Rheumatoid Factor (44 IU/ml - 220 IU/ml)

Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglycerides (10 mg/dl - 250 mg/dl)

Haemoglobin (5 mg/ml - 30 mg/ml)

The presence of the above interfering substances in the test serum does not alter the test result.

14. CROSS-REACTIVITY

15 samples, positive for AMA-M2, SMA and HCV were tested.

No significant cross-reactions were detected.

15. COMPARISON STUDIES

In one trial, 263 samples were analysed with a Diesse kit and another commercially available kit.

The trial data are outlined below:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	4	0	4
	-	0	259	259
	Total	4	259	263

Positive Percent Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI_{95%}: 51.0-99.4

Negative Percent Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 98.5-100.0

The degree of agreement between the two methods is excellent with a value of K (Cohen's coefficient) of 1.

16. ACCURACY AND REPEATABILITY

Sample	Within the session		Between sessions	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	3.8	12.4	3.0	14.3
2	37.1	10.8	33.9	8.7
3	59.5	11.2	61.3	13.5

Sample	Between batches		Between instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	5.0	3.4	3.4	14.1
2	39.7	8.0	30.2	13.9
3	72.0	11.1	59.3	14.2

17. BIBLIOGRAPHY

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55: 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344: 578-81.

**DIESSE DIAGNOSTICA SENESE****S.p.A.****Strada dei Laghi, 39****53035 Monteriggioni (SIENA)****Italy**



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS LKM-1

Pro semikvantitativní stanovení IgG protilátek proti mikrozomům jater a ledvin (LKM)

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro semikvantitativní stanovení protilátek třídy IgG proti mikrozomům jater a ledvin (LKM) v lidském séru pomocí jednorázového nástroje pro zařízení Chorus a Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Autoimunitní hepatitida (AIH) je progresivní onemocnění jater neznámého původu, které dobře reaguje na imunosupresivní léčbu, ale které má, pokud se neléčí, velmi negativní prognózu. Bezpečná a včasná diagnóza hraje v takovém případě velmi významnou roli. Onemocnění AIH je charakterizováno histologickým obrazem periportální hepatitidy bez přítomnosti virových markerů, hypergamaglobulinémií a u většiny pacientů přítomností autoprotilátek v séru. Antijaderné protilátky, protilátky proti hladkým svalům (SMA, smooth muscle antibodies), protilátky proti mikrozomům jater a ledvin (LKM, liver-kidney microsomes) a protilátky proti rozpustnému antigenu jater (SLA, soluble liver antigen) jsou protilátky značící AIH. 52 % pacientů s AIH je pozitivních na ANA a/nebo SMA, 20 % pozitivní na SLA a 3 % vykazují protilátky proti LKM-1. Všechny tyto protilátky jsou velmi důležité pro diagnózu AIH, nicméně v současné době jsou vysoce specifické pro AIH pouze autoprotilátky anti-SLA. Protilátky ANA/SMA jsou zjištěny u 10-15 % pacientů postižených virovou hepatitidou či jinými imunitně mediovanými onemocněními. LKM-1 lze zjistit rovněž u pacientů s hepatitidou typu C.

Protilátky anti-LKM se dělí na tři typy podle příslušných cílových antigenů. Protilátky anti-LKM-1 jsou zaměřeny proti cytochromu p450 IID6, cytoplasmatickému proteinu o 50 kDa, který se vyskytuje v hepatocytech a v proximálních tubulech ledvin. Protilátky LKM-2 jsou spojované s hepatitidou vyvolanou ticrynafehem. Cílovým antigenem u LKM-2 je cytochrom p450 IIC9, izoenzym cytochromu p450, který vyvolává metabolickou oxidaci léku. Protilátky anti-LKM-3 jsou spojovány s chronickou hepatitidou typu D a jejich cílovým antigenem je UDP-glukuronát transferáza.

Onemocnění AIH spojené s anti-LKM-1 vzniká převážně v dětském věku, a to především u dívek mezi 2. a 14. rokem. Stanovení protilátek anti-LKM-1 je tedy velmi důležité v pediatrii.

3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus LKM-1 je připraven k použití pro stanovení IgG protilátek proti mikrozomům jater a ledvin (LKM) v 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 křenovou 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 pomocí FDA schválených testů jak při vyhledávání HBsAg, tak při vyhledávání protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že nejsou přítomna infekční činidla, 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 kyseliny, ty je nutné nejprve ořivením 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 minut.

- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte, zda jsou v nástroji přítomny všechny reagentie a zda nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, u nichž je při vizuální kontrole zjištěna nepřítomnost některé reagentie nebo přítomnost cizího tělesa v reagenční jamce.
- Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus/Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
- Zkontrolujte, že je zařízení Chorus/Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze).
- Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
- Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.
- Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
- Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
- Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků představujících mikrobiální znečištění.
- Nástroj nepoužívejte po datu použitelnosti
- Ujistěte se, že je zařízení připojeno k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86080).

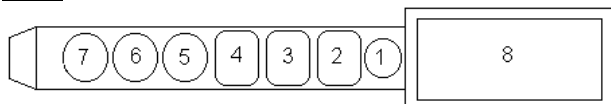
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86080/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích v každém balení (REF 86080).

2 balení po 6 nástrojích v každém balení (REF 86080/12).

Popis:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená rekombinantním cytochromem p450 IID6.

Pozice 5: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Nepotažena.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: roztok solného proteinu obsahující ProClin (0,1%).

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: monoklonální protilátky lidských anti-IgG označené peroxidázou.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Do ní uživatel umístí neředěné sérum.

Použití: nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě, poté jej otevřete, vyjměte potřebné nástroje, 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 0,175 ml

Obsah: Proteinový roztok obsahující specifické protilátky schopné vázat mikrotitrační destičku a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Proteinový roztok obsahující specifické protilátky schopné vázat mikrotitrační destičku 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 objemu 50–200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby na sběr potenciálně infekčního materiálu

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagentie je nutné skladovat při teplotě 2/8°C. Skladujete-li reagentie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9: Validace testu).

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

Reagentie mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 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. Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v bodě 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 každého nástroje napipetujte 50 µl neředěného séra k testování; při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibraci.
4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus/Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a proveďte 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 zařízení. 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: pokud je výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12 AU/ml

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 12 až 18 AU/ml

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný/nejednoznačný, odeberte nový vzorek.

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. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah 3,0-300 AU/ml.

U vzorků > 300 AU/ml zopakujte test předředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (REF 83607 - není součástí soupravy).

13. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

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

Revmatoidní faktor (44 IU/ml – 220 IU/ml)

Bilirubin (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)

Triglyceridy (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Hemoglobin (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

14. KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Bylo testováno 15 vzorků pozitivních na AMA-M2, SMA a HCV.

Nebyly hlášeny žádné významné zkřížené reakce.

15. SROVNÁNÍ METOD

V rámci studie bylo analyzováno 263 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy.

Výsledky této studie shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	4	0	4
	-	0	259	259
	Celkem	4	259	263

Pozitivní shoda v procentech (~Diagnostická senzitivita):

100,0% CI_{95%}: 51,0-99,4

Negativní shoda v procentech: (~Diagnostická specifita):

100,0% CI_{95%}: 98,5-100,0

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

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	3,8	12,4	3,0	14,3
2	37,1	10,8	33,9	8,7
3	59,5	11,2	61,3	13,5

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	5,0	3,4	3,4	14,1
2	39,7	8,0	30,2	13,9
3	72,0	11,1	59,3	14,2

17. BIBLIOGRAFIE

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS LKM-1

**Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG έναντι των μικροσωμάτων
ήπατος και νεφρών (LKM)**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG έναντι των μικροσωμάτων ήπατος και νεφρών (LKM) στον ανθρώπινο ορό με συσκευή μίας χρήσης σε συνδυασμό με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα (AIH) είναι μια προοδευτική ηπατική νόσος άγνωστης προέλευσης, που ανταποκρίνεται καλά στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία, αλλά η οποία, εάν δεν αντιμετωπιστεί, έχει αρνητική πρόγνωση. Ως εκ τούτου, η ασφαλής και έγκαιρη διάγνωση διαδραματίζει καίριο ρόλο. Η AIH χαρακτηρίζεται από την ιστολογική εικόνα μίας περιτυλαίας ηπατίτιδας απουσία ιογενών δεικτών, από υπεργαμιασφαιριναιμία και, στην πλειοψηφία των ασθενών, από την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό. Τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), τα αντισώματα έναντι λείων μυικών ινών (SMA, smooth muscle antibodies), τα αντισώματα έναντι των μικροσωμάτων ήπατος και νεφρών (LKM, liver-kidney microsomes) και τα αντισώματα έναντι του διαλυτού αντιγόνου του ήπατος (SLA, soluble liver antigen) είναι αντισώματα-δείκτες για την AIH. Το 52% των ασθενών με AIH είναι θετικοί ANA ή/και SMA, το 20% θετικοί SLA και το 3% παρουσιάζουν αντισώματα αντι-LKM- 1. Όλα αυτά τα αντισώματα είναι πολύ σημαντικά για τη διάγνωση AIH, ωστόσο μέχρι τώρα μόνο τα αυτοαντισώματα αντι-SLA προέκυψαν ιδιαίτερα εξειδικευμένα για την AIH. Τα ANA/SMA εντοπίζονται στο 10-15% των ασθενών που πάσχουν από ιογενή ηπατίτιδα ή άλλες παθήσεις που οφείλονται σε ανοσολογικές διαταραχές. Τα LKM-1 βρίσκονται επίσης σε ασθενείς με ηπατίτιδα C.

Τα αντισώματα αντι-LKM μπορούν να χωριστούν σε τρεις τύπους σε σχέση με τα αντίστοιχα αντιγόνα στόχους. Τα αντισώματα αντι-LKM-1 στρέφονται κατά του κυτοχρώματος p450 IID6, μια κυτοπλασματική πρωτεΐνη 50 kDa που βρίσκεται στα ηπατοκύτταρα και στα εγγύς νεφρικά σωληνάρια. Τα

αντισώματα LKM-2 συνδέονται με την ηπατίτιδα που προκαλείται από τιενιλικό οξύ (ticrynafen). Το αντιγόνο-στόχος των LKM-2 είναι το κυτόχρωμα p450 IIC9, ένα ισοένζυμο του κυτοχρώματος p450, που επιφέρει τη μεταβολική οξείδωση του φαρμάκου. Τα αντισώματα αντι-LKM-3 συνδέονται με τη χρόνια ηπατίτιδα D και το αντιγόνο-στόχος τους είναι το UDP-γλυκουρονοσυλτρανσφεράση.

Η AIH που συνδέεται με αντι-LKM-1 εκδηλώνεται κυρίως στη νηπιακή ηλικία, ειδικά σε κορίτσια ηλικίας μεταξύ 2 και 14 ετών. Συνεπώς, ο προσδιορισμός των αντισωμάτων αντι-LKM-1 είναι θεμελιώδους σημασίας στην παιδιατρική.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεχνολογικό προϊόν Chorus LKM-1 είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι των μικροσωμάτων ήπατος και νεφρών (LKM), στους αναλυτές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στην ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Το αντιγόνο ακινητοποιείται στη στερεά φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες δεσμεύονται στο αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το σύζευγμα, που αποτελείται από αντισώματα έναντι των ανθρώπινων ανοσοσφαιρινών συζευγμένα με υπεροξειδάση ραφανιδίων. Απομακρύνεται το σύζευγμα που δεν δεσμεύθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων στον ορό υπό εξέταση.

Τα τεχνολογικά προϊόντα μίας χρήσης περιλαμβάνουν όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση της δοκιμής στους αναλυτές Chorus/Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε αυθαίρετες μονάδες AU/ml).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν ελεγχθεί και έχουν βρεθεί αρνητικά με δοκιμές εγκεκριμένες από την FDA για HBsAg και για αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Ωστόσο, επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να εγγυηθεί απόλυτα την απουσία μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικό. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και όλων των δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τα καθιερωμένα πρότυπα ασφαλείας που εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Απόρριψη υπολειμμάτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και τα strip που έχουν χρησιμοποιηθεί πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσματικά απόβλητα και επομένως να απορρίπτονται σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία.

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση από πιπέτα με το στόμα.

- Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά για τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
- Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τις συσκευές στον αναλυτή Chorus/Chorus TRIO.
- Για τις απαιτήσεις ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιλαμβάνονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
- Τα εξουδετερωμένα οξέα και τα άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται με προσθήκη επαρκούς όγκου υποχλωριώδους νατρίου, ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θεωρείται επαρκής για να διασφαλιστεί αποτελεσματική απολύμανση.
- Εάν χυθούν υλικά που ενδέχεται να είναι μολυσμένα, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, π.χ., με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν συνεχιστεί η εργασία. Εάν τα υλικά που θα χυθούν περιέχουν οξύ, δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί υποχλωριώδες νάτριο πριν στεγνώσει η περιοχή. Όλα τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν για να απολυμανθούν χυμένα υγρά, μαζί με τα γάντια, θα πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην τοποθετείτε στο αυτόκαυστο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Προειδοποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία

Οι συσκευές που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να μεταφέρονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) πριν από τη χρήση, και να χρησιμοποιούνται μέσα σε 60 λεπτά.

- Απορρίψτε τις συσκευές όπου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) έχει χρώμα μπλε.**
- Αφού προσθέσετε το δείγμα στην κυψελίδα, βεβαιωθείτε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
- Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευής και βεβαιωθείτε ότι όντως περιλαμβάνει όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια. Εάν κατά τον οπτικό έλεγχο διαπιστώσετε ότι από τη συσκευή λείπει κάποιο αντιδραστήριο και/ή υπάρχουν ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης, μη χρησιμοποιήσετε τη συγκεκριμένη συσκευή.
- Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τους αναλυτές Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή.
- Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένος σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
- Μην αλλοιώνετε τον γραμμοκωδικό που υπάρχει στη λαβή του τεχνολογικού προϊόντος, ώστε ο αναλυτής να μπορεί να διαβάσει σωστά τον κωδικό.
- Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων.
- Ελαττωματικοί γραμμοκωδικοί μπορούν να καταχωριστούν στον αναλυτή με πληκτρολόγηση (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
- Τα τεχνολογικά προϊόντα δεν πρέπει να εκτίθενται σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη φύλαξη και τη χρήση.

- Εάν χρησιμοποιηθούν έντονα αιμολυμένα, λιπαιμικά ή ικτερικά δείγματα, ή δείγματα ορού που δεν έχει πήξει τελείως, ή δείγματα με μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.
- Μη χρησιμοποιείτε το τεχνολογικό προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης
- Ελέγξτε αν ο αναλυτής είναι συνδεδεμένος με το Washing Buffer Autoimmunity (Κωδ. 86004)**

5. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

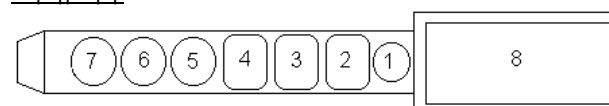
Το κιτ επαρκεί για 36 δοκιμασίες προσδιορισμού (ΚΩΔ 86080). Το κιτ επαρκεί για 12 δοκιμασίες προσδιορισμού (ΚΩΔ 86080/12).

DD ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

6 συσκευασίες με 6 τεχνολογικά προϊόντα η καθεμία (ΚΩΔ 86080).

2 συσκευασίες με 6 τεχνολογικά προϊόντα η καθεμία (ΚΩΔ 86080/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Χώρος διαθέσιμος για ετικέτα με γραμμοκωδικό

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΤΟΙΧΩΜΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένο με ανασυνδυασμένο κυτόχρωμα p450 IID6.

Θέση 5: ΤΟΙΧΩΜΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη σταθεροποιημένη σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών

Θέση 3: ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό αλατούχο διάλυμα που περιέχει Proclin (0,1%).

Θέση 2: ΣΥΖΕΥΓΜΑ

Περιεχόμενο: ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgG σημασμένα με υπεροξειδάση.

Θέση 1: ΚΕΝΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Όπου ο χρήστης πρέπει να διανείμει τον αδιάλυτο ορό.

Χρήση: εξισορροπήστε μια συσκευασία σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα και αφαιρέστε όσες συσκευές απαιτούνται. Επανατοποθετήστε τις υπόλοιπες συσκευές στη σακούλα που περιέχει πυριτική γέλη, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε**, πιέζοντας τη σφράγιση. Φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0,175 mL

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει ειδικά αντισώματα ικανά να δεσμεύσουν μικροπλάκα και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0,425 mL

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει ειδικά αντισώματα ικανά να δεσμεύσουν μικροπλάκα και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ, ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **ΚΩΔ** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **ΚΩΔ** 83609
- SANITIZING SOLUTION **ΚΩΔ** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **ΚΩΔ** 83607
- Αναλυτής Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνήθης γυάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες κ.λπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια 50-200 μl διαλύματος.
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Περιέκτες για την περισυλλογή δυνητικά μολυσματικών υλικών

6. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να φυλάσσονται στους 2/8°C. Αν έχουν φυλαχθεί σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναλαμβάνεται η βαθμονόμηση και να ελέγχεται η ορθότητα του αποτελέσματος με ανάλυση του ορού ελέγχου (βλ. ενότητα 9: Επικύρωση του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης αναγράφεται σε κάθε επιμέρους στοιχείο και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή μετά την προετοιμασία:

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C

7. ΤΥΠΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι ορός που λαμβάνεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαρακέντηση και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις εάν χρησιμοποιηθούν άλλα βιολογικά υγρά.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2-8°C. Για μεγαλύτερα διαστήματα συντήρησης, να καταψύχεται στους -20°C.

Το δείγμα μπορεί να υποβληθεί το πολύ σε 3 αποψύξεις.

Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε το δείγμα προσεκτικά πριν από τη δοσομέτρηση.

Η αδρανοποίηση με θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει

σημαντικά την ποιότητα του δείγματος, με αποτέλεσμα να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε τη σακούλα (από την πλευρά όπου βρίσκεται το κουμπωτό κλείσιμο), αφαιρέστε όλες τις συσκευές χρειάζεστε για τη διεξαγωγή των εξετάσεων και φυλάξτε τις υπόλοιπες, κλείνοντας τη σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής, σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα 4 «Προεידιοποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία».
3. Στο τοίχωμα αρ. 1 κάθε τεχνολογικού προϊόντος προσθέστε 50 μl μη αραιωμένου ορού για ανάλυση, με κάθε αλλαγή παρτίδας χρησιμοποιείτε ένα τεχνολογικό προϊόν για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τις συσκευές στον αναλυτή Chorus/Chorus TRIO. Εκτελέστε τη βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και το τεστ όπως περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Οδηγιών του αναλυτή.

9. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον θετικό ορό μάρτυρα για να επαληθεύσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή. Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του ορού ελέγχου βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, επικοινωνήστε με το τμήμα επιστημονικής υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554

Φαξ: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Ο αναλυτής Chorus/Chorus TRIO εμφανίζει το αποτέλεσμα σε αυθαίρετες μονάδες (AU/ml), υπολογισμένο με βάση μια καμπύλη (ειδική για κάθε παρτίδα) που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη του αναλυτή.

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας για τον εξεταζόμενο ορό μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18 AU/ml

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12 AU/ml

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα είναι μεταξύ 12 και 18 AU/ml

Αν το αποτέλεσμα είναι αμφίβολο/ασαφές επαναλάβετε το τεστ.

Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές, επαναλάβετε τη δειγματοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Κάθε τιμή που λαμβάνεται πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά, λαμβάνοντας υπόψη και άλλους δείκτες που σχετίζονται με τον εκάστοτε ασθενή.

Η κλινική διάγνωση δεν μπορεί να βασίζεται αποκλειστικά στο αποτέλεσμα του τεστ, το οποίο θα πρέπει να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα από το ιστορικό του ασθενή ή/και από άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης 3,0-300 AU/ml.

Για δείγματα > 300 AU/ml, επαναλάβετε το τεστ, προαραιώνοντας το δείγμα με Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - δεν περιλαμβάνεται στο κιτ).

13. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Εξετάστηκαν 2 δείγματα (1 αρνητικό, 1 θετικό) στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγων (44 IU/ml – 220 IU/ml)

Χολερυθρίνη (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml – 30 mg/ml)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στον εξεταζόμενο ορό δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του τεστ.

14. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Δοκιμάστηκαν 15 δείγματα, θετικά σε AMA-M2, SMA και HCV.

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Στο πλαίσιο πειραματικής μελέτης αναλύθηκαν 263 δείγματα με το κιτ της Diesse και με ένα άλλο εμπορικά διαθέσιμο κιτ.

Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται παρακάτω:

		Δοκιμασία αναφοράς		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	4	0	4
	-	0	259	259
	Σύνολο	4	259	263

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

100,0% CI_{95%}: 51,0-99,4

Percent Negative Agreement (~Διαγνωστική εξειδίκευση):

100,0% CI_{95%}: 98,5-100,0

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων καταδεικνύεται βέλτιστος, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 1.

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση (AU/ml)	CV%	Μέση (AU/ml)	CV%
1	3,8	12,4	3,0	14,3
2	37,1	10,8	33,9	8,7
3	59,5	11,2	61,3	13,5

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλυτών
--------	-----------------	-----------------

	Μέση (AU/ml)	CV%	Μέση (AU/ml)	CV%
1	5,0	3,4	3,4	14,1
2	39,7	8,0	30,2	13,9
3	72,0	11,1	59,3	14,2

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS LKM-1

Para la detección semicuantitativa de anticuerpos IgG antimicrosomales de hígado y riñón (LKM)

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos de tipo IgG antimicrosomales de hígado y riñón (LKM) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La hepatitis autoinmune (HAI) es una enfermedad hepática progresiva de origen desconocido, que responde bien al tratamiento inmunosupresor, pero que tiene un mal pronóstico si no se trata. Por lo tanto, un diagnóstico seguro y precoz es de suma importancia. La HAI se caracteriza por un cuadro histológico de hepatitis periportal en ausencia de marcadores virales, por una hipergammaglobulinemia y, en la mayoría de los pacientes, por la presencia de autoanticuerpos en el suero. Los anticuerpos antinucleares (ANA), los anticuerpos antimúsculo liso (SMA, smooth muscle antibodies), los anticuerpos antimicrosomales de hígado y riñón (LKM, liver-kidney microsomes) y los anticuerpos antiantígeno soluble de hígado (SLA, soluble liver antigen) son anticuerpos marcadores de HAI. El 52 % de los pacientes con HAI son ANA y/o SMA positivos, el 20 % SLA positivos y el 3 % tienen anticuerpos anti-LKM-1. Todos estos anticuerpos son muy importantes para el diagnóstico de la HAI, pero hasta ahora solo los autoanticuerpos anti-SLA han resultado ser altamente específicos para la HAI. Los ANA/SMA se encuentran en el 10-15 % de los pacientes con hepatitis viral u otras enfermedades inmunomediadas. Los LKM-1 también se encuentran en pacientes con hepatitis C.

Los anticuerpos anti-LKM pueden dividirse en tres tipos en relación con sus respectivos antígenos diana. Los anticuerpos anti-LKM-1 están dirigidos contra el citocromo p450 IID6, una proteína citoplasmática de 50 kDa que se encuentra en los hepatocitos y en los túbulos renales proximales. Los anticuerpos LKM-2 están asociados a la hepatitis inducida por el tetraciclina. El antígeno diana de los LKM-2 es el citocromo p450 IIC9, una isoenzima del citocromo p450, que induce la oxidación

metabólica del fármaco. Los anticuerpos anti-LKM-3 están asociados a la hepatitis D crónica y su antígeno diana es la UDP-glucuronosil-transferasa.

La HAI asociada a los anti-LKM-1 aparece principalmente en la infancia, en especial en niñas de 2 a 14 años. Por lo tanto, la determinación de los anticuerpos anti-LKM-1 tiene una importancia fundamental en pediatría.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus LKM-1 está listo para su uso y sirve para la determinación de anticuerpos IgG antimicrosomales de hígado y riñón (LKM) en los equipos Chorus y 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 métodos aprobados 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.
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 (REF. 86080).

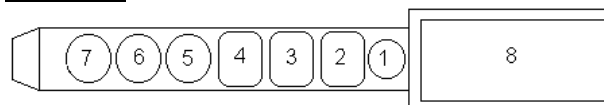
El contenido del kit es suficiente para realizar 12 determinaciones (REF. 86080/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases de 6 unidades cada uno (REF. 86080).

2 envases de 6 unidades cada uno (REF. 86080/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con citocromo p450 IID6 recombinante.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina estabilizada en tampón citrato.

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución proteica salina que contiene Proclin (0,1 %).

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgG humanos marcados con peroxidasa.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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 0,175 ml

Contenido: Solución proteica con anticuerpos específicos capaces de unir el antígeno presente en la microplaca, y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,425 ml

Contenido: Solución proteica con anticuerpos específicos capaces de unir el antígeno presente en la microplaca, 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	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROL POSITIVO	8 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 50 µl de suero sin diluir que se va a analizar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo; utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.
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 de Instrucciones 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 >18 AU/ml
NEGATIVO: cuando el resultado es <12 AU/ml
DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está comprendido entre 12 y 18 AU/ml

En caso de resultado dudoso o equivoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso o equivoco, repetir la extracción.

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 3,0-300 AU/ml.
Para las muestras >300 AU/ml repetir la prueba diluyéndolas previamente en Negative Control/Sample Diluent (PF83607- no incluido en el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

Factor reumatoide (44 IU/ml – 220 IU/ml)
Bilirrubina (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

14. REACCIONES CRUZADAS

Fueron analizadas 15 muestras, positivas para AMA-M2, SMA y VHC.

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 263 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

Diesse		Referencia		
		+	-	Total
	+	4	0	4
	-	0	259	259
	Total	4	259	263

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de diagnóstico):

100,0 % CI₉₅ %: 51,0-99,4

Percent Negative Agreement (~Especificidad de diagnóstico):

100,0 % CI₉₅ %: 98,5-100,0

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

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (AU/ml)	CV %	Media (AU/ml)	CV %
1	3,8	12,4	3,0	14,3
2	37,1	10,8	33,9	8,7
3	59,5	11,2	61,3	13,5

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (AU/ml)	CV %	Media (AU/ml)	CV %
1	5,0	3,4	3,4	14,1
2	39,7	8,0	30,2	13,9
3	72,0	11,1	59,3	14,2

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55: 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344: 578-81.



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





INSTRUCTIONS D'UTILISATION

CHORUS LKM-1

Pour la détection semi-quantitative des anticorps IgG anti-microsomes du foie et des reins (LKM)

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-microsomes du foie et des reins (LKM) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux instruments Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'hépatite auto-immune (AIH) est une maladie hépatique progressive d'origine inconnue, qui répond bien au traitement immunosuppresseur, mais dont le pronostic est mauvais si elle n'est pas traitée. Un diagnostic sûr et précoce revête donc une importance fondamentale. L'AIH est caractérisée par le cadre histologique d'une hépatite périportale en l'absence de marqueurs viraux, par une hypergammaglobulinémie et, chez la majorité des patients, par la présence d'auto-anticorps dans le sérum. Les anticorps antinucléaires (ANA), les anticorps anti-muscle lisse (SMA, smooth muscle antibodies), les microsomes foie-rein (LKM, liver-kidney microsomes) et l'antigène hépatique soluble (SLA, soluble liver antigen) sont des anticorps marqueurs de l'AIH. 52% des patients atteints d'AIH sont positifs aux ANA et/ou SMA, 20% aux SLA et 3% aux anticorps anti-LKM-1. Tous ces anticorps sont très importants pour le diagnostic de l'AIH, mais jusqu'à présent, seuls les auto-anticorps anti-SLA se sont avérés hautement spécifiques à l'AIH. On trouve des ANA/SMA chez 10 à 15% des patients atteints d'hépatite virale ou d'autres maladies à médiation immunitaire. Les LKM-1 sont également présents chez les patients atteints d'hépatite C.

Les anticorps anti-LKM peuvent être subdivisés en trois types en fonction de leurs antigènes cibles respectifs. Les anticorps anti-LKM-1 sont dirigés contre le cytochrome p450 IID6, une protéine cytoplasmique de 50 kDa présente dans les hépatocytes et les tubules rénaux proximaux. Les anticorps LKM-2 sont associés à l'hépatite induite par le ticrynafén. L'antigène cible des LKM-2 est le cytochrome p450 IIC9, une isoenzyme du cytochrome p450, qui induit l'oxydation métabolique du médicament. Les anticorps anti-LKM-3 sont associés à l'hépatite D chronique et leur antigène cible est l'UDP-glucuronosyl-transférase.

L'AIH associée aux anti-LKM-1 touche principalement les enfants, surtout les filles d'âge compris entre 2 à 14 ans. La

détermination des anticorps anti-LKM-1 revêt donc une importance fondamentale en pédiatrie.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus LKM-1 est prêt à être utilisé pour la détermination des anticorps IgG contre les microsomes du foie et des reins (LKM) dans les instruments Chorus/Chorus TRIO. Le test repose sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, à savoir 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 trouvées négatives pour la recherche de HbsAg et des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme 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. Une exposition à 1 %

d'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection 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.
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. **S'assurer que l'instrument est connecté à la Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 analyses (RÉF. 86080).

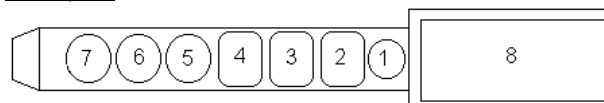
Le kit permet de réaliser 12 analyses (RÉF. 86080/12).

DD DISPOSITIFS

6 conditionnements de 6 dispositifs chacun (RÉF. 86080).

2 conditionnements de 6 dispositifs chacun (RÉF. 86080).

Description :



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec cytochrome p450 IID6 recombinant.

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine stabilisé dans un tampon citrate

Position 3 : DILUANT POUR ÉCHANTILLONS

Contenu : solution saline protéique contenant du Proclin (0,1%).

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgG humains marqués à la peroxydase.

Position 1 : PUIITS VIDE

L'utilisateur doit y mettre le sérum non dilué.

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 CALIBREUR 1 x 0,175 ml

Contenu : Solution protéique contenant des anticorps spécifiques capables de fixer la microplaque et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,425 ml

Contenu : Solution protéique contenant des anticorps spécifiques capables de fixer la microplaque et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (RÉF. 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (RÉF. 83609)
- SANITIZING SOLUTION (RÉF. 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (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

Conserver les réactifs entre 2 et 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	8 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 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 décongélation, 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

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), prélever le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet après en avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
3. Ajouter dans le puits n°1 de chaque dispositif 50 µl de sérum non dilué à analyser ; utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel des instructions 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 est encore 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 : quand le résultat est > 18 AU/ml
NÉGATIF : lorsque le résultat est < 12 AU/ml
AMBIGU/ÉQUIVOQUE : lorsque le résultat est compris entre 12 et 18 AU/ml

En cas de résultat douteux/ambigu, répéter le test. Si le résultat reste douteux/ambigu, répéter le prélèvement.

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 d'étalonnage 3,0-300 AU/ml.

Pour les échantillons > 300 AU/ml, répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - non fourni avec le kit).

13. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

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

Facteur rhumatoïde (44 IU/ml – 220 IU/ml)
Bilirubine (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycérides (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hémoglobine (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

14. RÉACTIONS CROISÉES

15 échantillons, positifs pour AMA-M2, SMA et HCV ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été observée.

15. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 263 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit du commerce.

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

		Référence		
		+	-	Total
	+	4	0	4
	-	0	259	259
Diesse	Total	4	259	263

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100,0% CI_{95%}: 51.0-99.4

Percent Negative Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100,0% CI_{95%}: 98.5-100.0

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

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Entre les séances	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	3.8	12.4	3.0	14.3
2	37.1	10.8	33.9	8.7
3	59.5	11.2	61.3	13.5

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	5.0	3.4	3.4	14.1
2	39.7	8.0	30.2	13.9
3	72.0	11.1	59.3	14.2

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



DIESSSE Diagnostica Senese
S.p.A.
 Strada dei Laghi, 39
 53035 Monteriggioni (SIENNE)
 Italie





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS LKM-1

Para a determinação semiquantitativa de anticorpos IgG para anti-microsossomais hepáticos e renais (LKM)

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos da classe IgG anti-microsossomais hepáticos e renais (LKM) em soro humano com dispositivo de utilização única aplicado aos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A hepatite autoimune (HAI) é uma doença hepática progressiva de origem desconhecida, que responde bem à terapia imunossupressora, mas tem um mau prognóstico se não for tratada. O diagnóstico seguro e precoce é, portanto, de extrema importância. A HAI é caracterizada pelo quadro histológico de uma hepatite periportal na ausência de marcadores virais, pela hipergamaglobulinemia e, na maioria dos doentes, pela presença de autoanticorpos no soro. Os anticorpos antinucleares (ANA), os anticorpos anti-músculo liso (AML), os anticorpos anti-microsossomais hepáticos e renais (LKM) e os anticorpos antiantigénios solúveis do fígado (SLA) são anticorpos marcadores para a HAI. 52% dos doentes com HAI são ANA e/ou AML positivos, 20% são SLA positivos, e 3% têm anticorpos anti-LKM-1. Todos estes anticorpos são muito importantes para o diagnóstico da HAI, no entanto, até agora só foram encontrados autoanticorpos anti-SLA altamente específicos para a HAI. Os ANA/AML são encontrados em 10-15% dos doentes com hepatite viral ou outras doenças imunomediadas. Os LKM-1s são também encontrados em doentes com hepatite C.

Os anticorpos anti-LKM podem ser divididos em três tipos em relação aos seus respetivos antígenos alvo. Os anticorpos anti-LKM-1 são dirigidos contra o citocromo p450 IID6, uma proteína citoplasmática de 50-kDa encontrada em hepatócitos e túbulos renais proximais. Os anticorpos LKM-2 estão associados à hepatite induzida por tetracina. O antígeno alvo de LKM-2 é o citocromo p450 IIC9, uma isoenzima de citocromo p450, que induz a oxidação metabólica do fármaco. Os anticorpos anti-

LKM-3 estão associados à hepatite D crónica e o seu antígeno alvo é UDP-glucuronosiltransferases.

A HAI associada ao anti-LKM-1 ocorre predominantemente na infância, especialmente em raparigas entre os 2 e 14 anos de idade. A determinação de anticorpos anti-LKM-1 é, portanto, de importância fundamental em pediatria.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus LKM-1 está pronto a ser utilizado para a determinação de anticorpos IgG anti-microsossomais hepáticos e renais (LKM) 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 encontrados negativos quer para HBsAg quer para os 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 infetado. 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 infetados 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.
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, ictéricas, 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 (REF 86080).

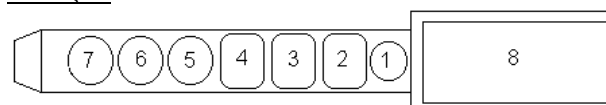
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86080/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86080).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86080/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com citocromo p450 IID6 recombinante.

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina estabilizada em tampão citrato

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina com Proclin (0,1%).

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: Anticorpos monoclonais IgG humano marcados com peroxidase.

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve colocar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 ml

Conteúdo: Solução proteica que contém anticorpos específicos capazes de ligar microplaca e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,425 ml

Conteúdo: Solução proteica que contém anticorpos específicos capazes de ligar microplaca e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

- 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	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue colhido por venipuntura e manuseado de acordo com os procedimentos laboratoriais normalizados.

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 os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após 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 50 µl de soro não diluído a analisar, a cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual de Instrução 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 a Assistência Científica.

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 é > 18 UA/ml

NEGATIVO: quando o resultado for <12 UA/ml

DUVIDOSO/EQUÍVOCO: quando o resultado está compreendido entre 12 e 18 UA/ml

Se o resultado for dúbio/equívoco, repetir o teste. Se o resultado continuar dúbio/equívoco, repetir a colheita.

11. LIMITES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescinda 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 3,0-300 AU/ml.

Para amostras > 300 UA/ml repetir o teste pré-diluindo a amostra em Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - não fornecido com o kit).

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

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

Fator Reumatoide (44 IU/ml – 220 IU/ml)

Bilirrubina (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglicéridos (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

14. REATIVIDADE CRUZADA

Foram testadas 15 amostras, positivas para AMA-M2, SMA e HCV.

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 263 amostras com o kit Diesse e com outro kit comercializado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	4	0	4
	-	0	259	259
	Total	4	259	263

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade de diagnóstico):

100,0% CI_{95%}: 51,0-99,4

Percent Negative Agreement: (~Especificidade de diagnóstico):

100,0% CI_{95%}: 98,5-100,0

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

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (UA/ml)	CV%	Média (UA/ml)	CV%
1	3,8	12,4	3,0	14,3
2	37,1	10,8	33,9	8,7
3	59,5	11,2	61,3	13,5

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (UA/ml)	CV%	Média (UA/ml)	CV%
1	5,0	3,4	3,4	14,1
2	39,7	8,0	30,2	13,9
3	72,0	11,1	59,3	14,2

17. BIBLIOGRAFIA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55: 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344: 578-81.



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



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione	FR Date de fabrication GR Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico CS Datum výroby
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro	FR Utiliser jusqu'à GR Ημερομηνία λήξης PT Prazo de validade CS Použijte do
	EN Do not reuse ES No reutilizar IT Non riutilizzare	FR Ne pas réutiliser GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση PT Não reutilizar CS Nepoužívejte znovu
	EN Caution, consult accompanying documents ES Atención, ver instrucciones de uso IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR Attention voir notice d'instructions GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα PT Atenção, consulte a documentação incluída CS Pozor, řiďte se návodem k použití
	EN Manufacturer ES Fabricante IT Fabbicante	FR Fabricant GR Κατασκευαστής PT Fabricante CS Výrobce
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR Contenu suffisant pour "n" tests GR Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios CS Obsah stačí na < n > testů
	EN Temperature limitation ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura	FR Limites de température GR Περιορισμοί θερμοκρασίας PT Limites de temperatura CS Obsah stačí na < n > testů
	EN Consult Instructions for Use ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso	FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης PT Consulte as instruções de utilização CS Čtěte návod k použití
	EN Biological risks ES Riesgo biológico IT Rischio biologico	FR Risques biologiques GR Βιολογικοί κίνδυνοι PT Risco biológico CS Biologická rizika
	EN Catalogue number ES Número de catálogo IT Numero di catalogo	FR Référence du catalogue GR Αριθμός καταλόγου PT Referência de catálogo CS Katalogové číslo
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro CS Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	EN Batch code ES Código de lote IT Codice del lotto	FR Code du lot GR Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote CS Kód šarže