

CHORUS

INTRINSIC FACTOR



REF 86090

REF 86090/12

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 In der aktuellen Revision eingeführte Änderungen Αλλαγές που εισάγονται στην τρέχουσα αναθεώρηση Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Alterações introduzidas na revisão atual	4, 5, 13, 14, 15, 16



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS INTRINSIC FACTOR

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-Intrinsic Factor

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-Intrinsic Factor nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La Anemia Perniciosa rappresenta lo stadio finale di una gastrite autoimmune (gastrite di tipo A) che porta alla distruzione della mucosa gastrica. Una ridotta percentuale di pazienti (10-15%) soggetti a gastrite autoimmune sviluppano la Anemia Perniciosa che nei paesi Occidentali è la causa più diffusa di deficienza da vitamina B12, dovuta alla mancanza del Fattore Intrinseco, una glicoproteina necessaria all'assorbimento della vitamina B12 nel tratto gastrointestinale.

Il Fattore Intrinseco viene prodotto dalle cellule della parete gastrica; la vitamina B12, a sua volta, è necessaria per la formazione dei globuli rossi.

La Anemia Perniciosa non compare generalmente prima dei 30 anni e viene diagnosticata in un'età media di 60 anni. Un recente studio ha infatti rivelato che quasi il 2% degli individui sopra i 60 anni soffrono di Anemia Perniciosa e che le donne sono leggermente più soggette degli uomini. La malattia colpisce qualsiasi gruppo etnico, ma è più frequente nelle popolazioni con origini scandinave o nord-europee.

Pazienti affetti da Anemia Perniciosa sviluppano autoanticorpi verso le cellule parietali della mucosa gastrica e verso il Fattore Intrinseco. Gli anticorpi contro le cellule parietali hanno una sensibilità dell'80-90% ma possono essere rilevati fino al 5% nei soggetti sani; gli anticorpi contro il Fattore Intrinseco mostrano una sensibilità del 50-70% con una specificità del 100% in soggetti sani.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Intrinsic Factor è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-Intrinsic Factor, 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. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi 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 Schede di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86090).

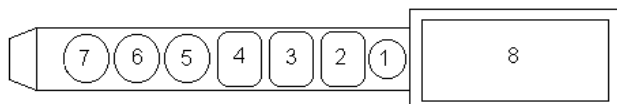
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86090/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86090).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86090/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre
Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA
Sensibilizzato con Fattore Intrinseco 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 in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.175 ml**

Contenuto: Siero diluito contenente anticorpi e conservante. Liquido, pronto all'uso

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO **1 x 0.425 ml**

Contenuto: Siero diluito contenente anticorpi 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 sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

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

8. PROCEDIMENTO

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

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

In caso di risultato equivoco ripetere il test. Se il risultato rimane 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 3.0-300.0 AU/ml.

Per campioni > 300.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (REF 83607- non fornito con il kit).

13. SPECIFICITÀ ANALITICA

Sono stati testati 4 campioni (2 Negativi, 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 – 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 (con l'eccezione di emoglobina).

14. CROSS-REATTIVI

39 campioni, positivi a Herpes virus (3), Virus della rosolia (4), Helicobacter pylori (4), Varicella zoster (3), Citomegalovirus (4), virus di Epstein-Barr (4), Toxoplasma gondii (6) e ANA (11) sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 309 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Totale	40	269	309

Percentuale di concordanza positiva: (~Sensibilità Diagnostica): 100.0% CI_{95%}: 91.2-99.9

Percentuale di concordanza negativa: (~Specificità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 98.6-100.0

Valore predittivo positivo (PPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

Valore predittivo negativo (NPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

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

16. PRECISIONE

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	66.6	4.5	55.2	13.0
2	14.2	3.4	12.1	11.2
3	3.4	11.5	3.5	12.0

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	3.4	9.1	57.0	9.1
2	57.5	11.5	12.3	14.3
3	20.8	8.8	3.7	13.5

17. BIBLIOGRAFIA

1. Carmel, R. (1992). *Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race*. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
2. Oh R, Brown DL (2003). *Vitamin B12 deficiency*. Am Fam Physician, 67: 979-986.
3. Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). *Pernicious Anaemia*. Autoimmunity 37 : 357-361.
4. Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). *Pernicious Anaemia*. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
5. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez1; Karen Shackelford.
6. Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres1,2Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.
7. Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS INTRINSIC FACTOR

For the semi-quantitative determination of anti-Intrinsic Factor IgG antibodies

Only for *in vitro* diagnostic use

1. USE

Enzyme immunoassay for the semi-quantitative determination of anti-Intrinsic Factor IgG class antibodies in human serum with a single-use device applied to Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Pernicious Anaemia represents the final stage of an autoimmune gastritis (type A gastritis) which leads to the destruction of the gastric mucosa. A small percentage of patients (10-15%) subject to autoimmune gastritis develops Pernicious Anaemia which in Western countries is the most widespread cause of vitamin B12 deficiency, due to the lack of the Intrinsic Factor, a glycoprotein necessary for the absorption of vitamin B12 in the gastrointestinal tract.

The Intrinsic Factor is produced by the cells of the gastric wall; Vitamin B12, in turn, is necessary for the formation of red blood cells.

Pernicious Anaemia does not generally appear before the age of 30 and is diagnosed at an average age of 60. In fact, a recent study revealed that almost 2% of individuals over 60 suffers from Pernicious Anaemia and that women are slightly more prone than men to suffer from it. The disease affects any ethnic group but is more common in populations with Scandinavian or Northern European origins.

Patients with Pernicious Anaemia develop autoantibodies to the parietal cells of the gastric mucosa and to the Intrinsic Factor. Antibodies against parietal cells have a sensitivity of 80-90% but can be detected up to 5% in healthy subjects; antibodies against Intrinsic Factor show a sensitivity of 50-70% with a 100% specificity in healthy subjects.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Intrinsic Factor device is ready to use for the determination of anti-Intrinsic Factor IgG antibodies, in Chorus/Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). 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. WARNINGS AND 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.
Use of the kit is only possible with an updated version of the software. Make sure that the software installed in the instrument matches or has a Release (date) above the one shown in the table published on the Diesse website
(<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>)
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 86090).

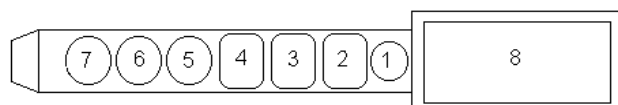
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86090/12).

DD DEVICES

6 packs of 6 devices each (REF 86090).

2 packs of 6 devices each (REF 86090/12).

Description:



Position 8: Space available for barcode label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Sensitised with recombinant Intrinsic Factor.

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 anti-galactomannan monoclonal antibodies in phosphate buffer solution containing 0.05% phenol and 0.02% Bronidox.

Position 1: EMPTY WELL

Where the sample is transferred.

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: Diluted serum containing antibodies and preservative.

Liquid, ready to use

CONTROL + POSITIVE CONTROL **1 x 0.425 ml**

Content: Diluted serum containing antibodies 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 50-200µl.
- 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 of each device, 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 equivocal result, repeat the test. If the result remains 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 3.0-300.0 AU/ml.

For samples >300.0 AU/ml repeat the test, pre-diluting the sample with the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607- not supplied with the kit).

13. ANALYTICAL SPECIFICITY

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

Rheumatoid factor (44 - 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 (with the exception of haemoglobin).

14. CROSS-REACTIVITY

39 samples, positive for Herpes virus (3), Rubella virus (4), Helicobacter pylori (4), Varicella zoster (3), Cytomegalovirus (4), Epstein-Barr virus (4), Toxoplasma gondii (6) and ANA (11) were tested.

No significant cross-reactions were detected.

15. COMPARISON STUDIES

In one trial, 309 samples were analysed with a Diesse kit and another commercially available kit

The trial data are outlined below:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Total	40	269	309

Positive Agreement Rate: (~ Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI_{95%}: 91.2-99.9

Negative Agreement Rate: (~ Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 98.6-100.0

Positive Predictive Value (PPV): 100.0% CI_{95%}: 100.0-100.0

Negative Predictive Value (NPV): 100.0% CI_{95%}: 100.0-100.0

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

16. PRECISION

Sample	Within the session		Between sessions	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	66.6	4.5	55.2	13.0
2	14.2	3.4	12.1	11.2
3	3.4	11.5	3.5	12.0

Sample	Between batches		Between instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	3.4	9.1	57.0	9.1
2	57.5	11.5	12.3	14.3
3	20.8	8.8	3.7	13.5

17. BIBLIOGRAPHY

1. Carmel, R. (1992). *Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race*. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
2. Oh R, Brown DL (2003). *Vitamin B12 deficiency*. Am Fam Physician, 67: 979-986.
3. Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). *Pernicious Anaemia*. Autoimmunity 37 : 357-361.
4. Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). *Pernicious Anaemia*. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
5. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez¹; Karen Shackelford.
6. Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres^{1,2}Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.
7. Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565–568.



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS INTRINSIC FACTOR

Pro semikvantitativní stanovení protilátek IgG anti-Intrinsic Factor

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro semikvantitativní stanovení protilátek třídy IgG anti-Intrinsic Factor v lidském séru pomocí jednorázového nástroje pro zařízení Chorus a Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Perniciózní anémie představuje poslední stádium autoimunitní gastritidy (gastritida typu A), která poškozuje žaludeční sliznici. U malého procenta pacientů (10-15 %) postižených autoimunitní gastritidou se vyvine perniciózní anémie, která je v západních zemích nejrozšířenější příčinou nedostatku vitamínu B12 z důvodu nepřítomnosti vnitřního faktoru, tj. glykoproteinu nezbytného pro vstřebávání vitamínu B12 v trávicí soustavě.

Vnitřní faktor je produkován buňkami žaludeční stěny; vitamín B12 je nezbytný pro tvorbu červených krvinek.

Perniciózní anémie se většinou neobjevuje před 30. rokem a je diagnostikována v průměrném věku 60 let. Nová studie zjistila, že téměř 2 % osob nad 60 let trpí perniciózní anémií a že ženy jsou tímto onemocněním postiženy více než muži. Tato nemoc postihuje jakoukoliv etnickou skupinu, ale je častější v populacích skandinávského či severoevropského původu.

Pacienti postižení perniciózní anémií si vytvářejí autoprotilátky proti parietálním buňkám žaludeční sliznice a proti vnitřnímu faktoru. Protilátky proti parietálním buňkám mají citlivost mezi 80-90 %, ale lze je nalézt až u 5 % zdravých subjektů; protilátky proti vnitřnímu faktoru vykazují citlivost mezi 50-70 % se 100% specifitou u zdravých subjektů.

3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus Intrinsic Factor je připraven k použití pro stanovení protilátek IgG anti-Intrinsic Factor, za pomoci zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem. Po promytí za účelem odstranění nenavázaných proteinů se provádí inkubace s konjugátem složeným z protilátek lidských anti-imunoglobulinů konjugovaných s 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. VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*.

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky 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 otřením vysušit. Všechny materiály použité k čištění případně potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nekládejte do autoklávy.

Opatření pro správné provedení testu

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

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

Používání soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že je verze softwaru nainstalovaného v zařízení vyšší nebo stejná jako verze uvedená v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse

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

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

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86090).

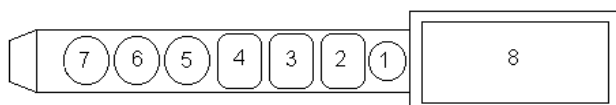
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86090/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích v každém balení (REF 86090).

2 balení po 6 nástrojích v každém balení (REF 86090/12).

Popis:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená rekombinantním vnitřním faktorem.

Pozice 5: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Nepotažená.

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, ve fosfátovém pufru obsahujícím fenol 0,05% a Bronidox 0,02%.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam je přenesen vzorek.

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: Naředěné sérum obsahující protilátky a konzervant. Tekutina, připravená k použití

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Naředěné sérum obsahující protilátky a konzervant. Tekutina, připravená k použití

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2/8°C. Skladujete-li reagencie 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.

Reagencie 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. Zkontrolujte vizuálně stav nástroje podle údajů uvedených v kapitole 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: je-li výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12 AU/ml

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

V případě nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test 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 3,0-300,0 AU/ml.

U vzorků > 300,0 AU/ml zopakujte test předředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (REF 83607 - není součástí soupravy).

13. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Byly testovány 4 vzorky (2 negativní, 2 pozitivní), k nimž byly přidány následující interferenční látky:

Revmatoidní faktor (44 – 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 (s výjimkou hemoglobinu).

14. KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Bylo testováno 39 vzorků, pozitivních na herpes virus (3), virus zarděnek (4), Helicobacter pylori (4), Varicella zoster (3), cytomegalovirus (4), Epstein-Barrové virus (4), Toxoplasma gondii (6) a ANA (11).

Nebyly hlášeny žádné významné zkřížené reakce.

15. SROVNÁNÍ METOD

V rámci studie bylo analyzováno 309 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy.

Výsledky této studie shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Celkem	40	269	309

Procento pozitivní konkordance (~Diagnostická citlivost):

100,0% CI_{95%}: 91,2-99,9

Procento negativní konkordance: (~Diagnostická specifita):

100,0% CI_{95%}: 98,6-100,0

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

Negativní prediktivní hodnota (NPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

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

16. PŘESNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	66,6	4,5	55,2	13,0
2	14,2	3,4	12,1	11,2
3	3,4	11,5	3,5	12,0

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	3,4	9,1	57,0	9,1
2	57,5	11,5	12,3	14,3
3	20,8	8,8	3,7	13,5

17. BIBLIOGRAFIE

- Carmel, R. (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
- Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician, 67: 979-986.
- Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious Anaemia. Autoimmunity 37 : 357-361.
- Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious Anaemia. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
- NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez1; Karen Shackelford.
- Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres1,2Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.
- Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS INTRINSIC FACTOR

Zur semiquantitativen Bestimmung von anti-Intrinsic Factor IgG-Antikörpern

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur semiquantitativen Bestimmung von anti-Intrinsic Factor Antikörpern der Klasse IgG in Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

Anaemia perniciosa (perniziöse Anämie) ist das Endstadium einer Autoimmungastritis (Typ-A-Gastritis), die zur Zerstörung der Magenschleimhaut führt. Ein geringer Prozentsatz der Patienten (10–15 %) mit Autoimmungastritis entwickelt eine perniziöse Anämie, die in den westlichen Ländern die häufigste Ursache für einen Vitamin B12-Mangel ist. Grund ist das Fehlen des Intrinsic Factors, eines Glykoproteins, das für die Aufnahme von Vitamin B12 im Magen-Darm-Trakt notwendig ist. Der Intrinsic Factor wird von den Zellen der Magenwand gebildet; Vitamin B12 ist für die Bildung der roten Blutkörperchen notwendig.

Die perniziöse Anämie tritt in der Regel nicht vor dem 30. Lebensjahr auf und wird im Durchschnitt im Alter von 60 Jahren diagnostiziert. Eine aktuelle Studie hat gezeigt, dass fast 2 % der Menschen über 60 Jahren an perniziöser Anämie leiden und dass Frauen etwas anfälliger sind als Männer. Die Krankheit tritt in allen ethnischen Gruppen auf, ist jedoch in Bevölkerungsgruppen skandinavischer oder nordeuropäischer Herkunft häufiger anzutreffen.

Patienten mit perniziöser Anämie entwickeln Autoantikörper gegen Parietalzellen der Magenschleimhaut und gegen den Intrinsic Factor. Antikörper gegen Parietalzellen haben eine Sensitivität von 80–90 %, können aber bei Gesunden bis zu 5 % nachgewiesen werden. Antikörper gegen den Intrinsic Factor weisen eine Sensitivität von 50–70 % und eine Spezifität von 100 % bei Gesunden auf.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Intrinsic Factor ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von anti-Intrinsic Factor IgG-Antikörpern in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das Antigen wird an die Festphase gebunden. In Folge der Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach

dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten humanen Anti-Immunglobulin-Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Arbitrary Units (AU/ml).

4. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*- DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30 °C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
Die Verwendung des Testsatzes ist nur mit einer aktualisierten Softwareversion möglich. Sicherstellen, dass die im Analysator installierte Software mit jener, die in der Tabelle auf der Diesse-Website angegeben ist, übereinstimmt, oder dass es sich um eine höhere Version (Rel.) handelt
(<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koagulierte Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden
12. Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer Autoimmunity (Ref. 86004) verbunden ist

5. BESTANDTEILE DES TESTSETS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF. 86090).

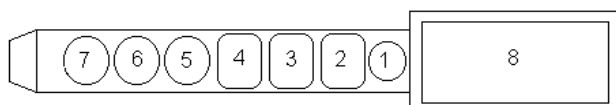
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF. 86090/12).

DD TESTMODULE

6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF. 86090).

2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF. 86090/12).

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit rekombinantem intrinsischem Faktor.

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert.

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer stabilisiert

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Salzhaltige Proteinlösung mit Proclin (0,1 %)

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte monoklonale humane Anti-IgG-Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0,05 % Phenol und 0,02 % Bronidox.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

Für die Probe.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss versiegeln. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR

1 x 0,175 ml

Inhalt: Verdünntes Serum mit Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssigkeit gebrauchsfertig

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE

1 x 0,425 ml

Inhalt: Verdünntes Serum mit Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssigkeit gebrauchsfertig

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY (REF. 86004)
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 (REF. 83609)
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG (REF. 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/RROBENVERDÜNNUNGSMITTEL (REF. 83607)
- Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl.
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei –20 °C eingefroren.

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Eine Hitzeinaktivierung kann zu falschen Ergebnissen führen. Durch eine mikrobiologische Kontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu analysierenden, unverdünnten Serums geben; bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDIERUNG

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses das positive Kontrollserum verwenden. Es wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für das Kontrollserum einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis des Kontrollserums weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in Arbitrary Units (AU/ml), die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis >18 AU/ml
NEGATIV: bei Ergebnis <12 AU/ml
MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 12 und 18 AU/ml

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin mehrdeutig bleiben, die Blutabnahme wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und das Ergebnis des Tests muss zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und/oder anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich 3,0–300,0 AU/ml.

Bei Proben >300,0 AU/ml den Test wiederholen und die Probe zuvor mit Negativer Kontrolle/Probenverdünnungsmedium (REF. 83607 - nicht im Testsatz enthalten) verdünnen.

13. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 4 Proben (2 negative, 2 positive) getestet, denen folgende Interferenzen beigefügt wurden:

Rheumafaktor (44–220 IU/ml)
Bilirubin (4,5 mg/dl–45 mg/dl)
Triglyceride (10 mg/dl–250 mg/dl)
Hämoglobin (5 mg/ml–30 mg/ml)

Die Präsenz der oben genannten Interferenzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis (mit Ausnahme von Hämoglobin).

14. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 39 Proben getestet, die positiv auf Herpes-Virus (3), Röteln (4), Helicobacter pylori (4), Varizella zoster (3), Cytomegalovirus (4), Epstein-Barr-Virus (4), Toxoplasma gondii (6) und ANA (11) waren.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

15. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 309 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Insgesamt	40	269	309

Positive Übereinstimmungsrate (~diagnostische Sensitivität):

100,0 % KI₉₅ %: 91,2–99,9

Negative Übereinstimmungsrate (~diagnostische Spezifität):

100,0 % KI₉₅ %: 98,6–100,0

Positiver Vorhersagewert (PPV): 100,0 % KI₉₅ %: 100,0–100,0

Negativer Vorhersagewert (NPV): 100,0 % KI₉₅ %: 100,0–100,0

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 1 optimal.

16. PRÄZISION

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (AU/ml)	VK %	Mittelwert (AU/ml)	VK %
1	66,6	4,5	55,2	13,0
2	14,2	3,4	12,1	11,2
3	3,4	11,5	3,5	12,0

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (AU/ml)	VK %	Mittelwert (AU/ml)	VK %
1	3,4	9,1	57,0	9,1
2	57,5	11,5	12,3	14,3
3	20,8	8,8	3,7	13,5

17. LITERATUR

1. Carmel, R. (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
2. Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician, 67: 979-986.
3. Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious Anaemia. Autoimmunity 37 : 357-361.
4. Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious Anaemia. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
5. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez¹; Karen Shackelford.
6. Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres^{1,2}Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.
7. Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS INTRINSIC FACTOR

**Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG έναντι του ενδογενούς
παράγοντα**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG έναντι του ενδογενούς παράγοντα (Intrinsic Factor) στον ανθρώπινο ορό με συσκευή μίας χρήσης σε συνδυασμό με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κακοήθης αναιμία είναι το τελικό στάδιο μιας αυτοανόσης γαστρίτιδας (γαστρίτιδα τύπου A) που οδηγεί σε καταστροφή του βλεννογόνου του στομάχου. Ένα μικρό ποσοστό ασθενών (10-15%) που πάσχουν από αυτοάνοση γαστρίτιδα αναπτύσσουν κακοήθη αναιμία. Η κακοήθης αναιμία είναι η πιο διαδεδομένη αιτία ανεπάρκειας βιταμίνης B12 στις χώρες της Δύσης. Η ανεπάρκεια οφείλεται στην έλλειψη του εγγενούς παράγοντα, μιας γλυκοπρωτεΐνης που είναι απαραίτητη για την απορρόφηση της βιταμίνης B12 από την γαστρεντερική οδό. Ο εγγενής παράγοντας παράγεται από τα κύτταρα του τοιχώματος του στομάχου. Η βιταμίνη B12, με τη σειρά της, είναι απαραίτητη για την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η κακοήθης αναιμία συνήθως εκδηλώνεται μετά την ηλικία 30 ετών και διαγιγνώσκεται σε μέση ηλικία 60 ετών. Πρόσφατη μελέτη έδειξε πράγματι ότι περίπου 2% των ατόμων άνω των 60 ετών πάσχουν από κακοήθη αναιμία και ότι οι γυναίκες είναι ελαφρώς πιο ευπαθείς από τους άνδρες. Η νόσος προσβάλλει όλες τις φυλετικές ομάδες, αλλά εμφανίζεται συχνότερα σε πληθυσμούς σκανδιναβικής ή βορειοευρωπαϊκής προέλευσης. Οι ασθενείς που πάσχουν από κακοήθη αναιμία αναπτύσσουν αυτοαντισώματα έναντι των τοιχωματικών κυττάρων του βλεννογόνου του στομάχου και έναντι του εγγενούς παράγοντα. Τα αντισώματα έναντι των τοιχωματικών κυττάρων έχουν ευαισθησία 80-90%, αλλά ανιχνεύονται και έως ποσοστό 5% σε υγιή άτομα. Τα αντισώματα έναντι του εγγενούς παράγοντα εμφανίζουν ευαισθησία 50-70% με ειδικότητα 100% σε υγιή άτομα.

3. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεχνολογικό προϊόν Chorus Intrinsic Factor είναι μια συσκευή έτοιμη προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG

έναντι του ενδογενούς παράγοντα στους αναλυτές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Το αντιγόνο δεσμεύεται 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 ανθρώπινων ανοσοσφαιρινών συζευγμένα με υπεροξειδάση ραφανίδων. 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.

Οι συσκευές 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. ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν ελεγχθεί και έχουν βρεθεί αρνητικά για HBsAg και για αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Ωστόσο, επειδή καμία διαγνωστική δοκιμασία 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.

Προειδοποιήσεις για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην χρησιμοποιείτε την πιπέτα με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά για τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τις συσκευές στον αναλυτή Chorus/Chorus TRIO.
4. Για τις απαιτήσεις ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιλαμβάνονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
5. 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.
6. 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 διαδικασία. 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 πρέπει να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) πριν από τη χρήση, και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

1. Απορρίψτε τις συσκευές όπου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) έχει χρώμα μπλε.
2. Αφού προσθέσετε το δείγμα στην κυψελίδα, βεβαιωθείτε ότι έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. 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.
4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τους αναλυτές Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή.

Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στον αναλυτή ανήκει στην ίδια ή μεταγενέστερη έκδοση (Rel.) από την έκδοση που αναφέρεται στον ιστότοπο της Diesse.

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

5. Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένος σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμοκωδικό που υπάρχει στη λαβή της συσκευής, ώστε ο αναλυτής να μπορεί να διαβάσει σωστά τον κωδικό.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων.
8. Ελαττωματικοί γραμμοκωδικοί μπορούν να καταχωριστούν στον αναλυτή με πληκτρολόγηση (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
9. Οι συσκευές δεν πρέπει να εκτίθενται σε δυνατό φως ούτε σε ατμούς υποχλωριώδους κατά τη φύλαξη ή τη χρήση.
10. 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.
11. Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης.
12. Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής είναι συνδεδεμένος με το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (Washing Buffer Autoimmunity, κωδ. 86004)

5. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ KIT ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

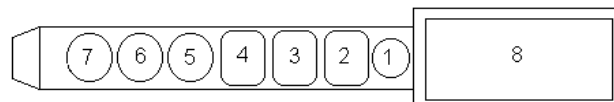
Το kit επαρκεί για 36 δοκιμασίες προσδιορισμού (ΚΩΔ 86090). Το kit επαρκεί για 12 δοκιμασίες προσδιορισμού (ΚΩΔ 86090/12).

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ

6 συσκευασίες με 6 συσκευές η καθεμία (ΚΩΔ 86090).

2 συσκευασίες με 6 συσκευές η καθεμία (ΚΩΔ 86090/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Χώρος για ετικέτα με γραμμοκωδικό

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με ανασυνδυασμένο εγγενή παράγοντα.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ 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, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει φαινόλη 0,05% και Bronidox 0,02%.

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ τοποθετείται το δείγμα.

Χρήση: εξισορροπήστε μια συσκευασία σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα και αφαιρέστε όσες συσκευές απαιτούνται. Ξανατοποθετήστε 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
0,175 ml

1 x

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ορός που περιέχει αντισώματα και συντηρητικά. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0,425 ml

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ορός που περιέχει αντισώματα και συντηρητικά. 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:

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 εβδομάδες στους 2-8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους 2-8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	8 εβδομάδες στους 2-8°C

7. ΤΥΠΟΙ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι ορός που λαμβάνεται από αίμα το οποίο έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαράκνηση 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 μέγιστο 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 που 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. «Προειδοποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία».

3. Στην κυψελίδα αρ. 1 κάθε συσκευής, προσθέστε 50 μl μη αραιωμένου ορού για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε μία συσκευή 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 ελέγχου 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 του τεστ 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

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

Αν το αποτέλεσμα είναι ασαφές, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει 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 και/ή από άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης: 3,0-300,0 AU/ml.

Για δείγματα > 300,0 AU/ml, επαναλάβετε το τεστ, προαραιώνοντας το δείγμα με Negative Control/Sample Diluent (ΚΩΔ 83607 - δεν περιλαμβάνεται στο kit).

13. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Εξετάστηκαν 4 δείγματα (2 αρνητικά, 2 θετικά), στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγων (44 – 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 (με εξαίρεση την αιμοσφαιρίνη).

14. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Εξετάστηκαν 39 δείγματα, θετικά για ιό έρπητα (3), ιό ερυθράς (4), ελικοβακτηρίδιο πυλωρού (4), ιό έρπητα ζωστήρα (3), κυτταρομεγαλοϊό (4), ιό Epstein-Barr (4), *Toxoplasma gondii* (6) και ANA (11).

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Στο πλαίσιο πειραματικής μελέτης, αναλύθηκαν 309 δείγματα με ένα kit της Diesse και με ένα άλλο kit διαθέσιμο στο εμπόριο.

Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται παρακάτω:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Σύνολο	40	269	309

Ποσοστό συμφωνίας θετικών (~Διαγνωστική ευαισθησία):

100,0% CI_{95%}: 91,2-99,9

Ποσοστό συμφωνίας αρνητικών (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100,0% CI_{95%}: 98,6-100,0

Θετική προγνωστική αξία (PPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

Αρνητική προγνωστική αξία (NPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

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

16. ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση (AU/ml)	CV%	Μέση (AU/ml)	CV%
1	66,6	4,5	55,2	13,0
2	14,2	3,4	12,1	11,2
3	3,4	11,5	3,5	12,0

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	Μέση (AU/ml)	CV%	Μέση (AU/ml)	CV%
1	3,4	9,1	57,0	9,1
2	57,5	11,5	12,3	14,3
3	20,8	8,8	3,7	13,5

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Carmel, R. (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
- Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician, 67: 979-986.
- Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious Anaemia. Autoimmunity 37 : 357-361.
- Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious Anaemia. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
- NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez1; Karen Shackelford.
- Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres1,2Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.
- Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS FACTOR INTRÍNSECO

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG antifactor intrínseco

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos de tipo IgG antifactor intrínseco en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La anemia perniciosa es la etapa final de una gastritis autoinmune (gastritis tipo A) que conduce a la destrucción de la mucosa gástrica. Un pequeño porcentaje de pacientes (10-15 %) sujetos a gastritis autoinmune desarrollan anemia perniciosa, que en los países occidentales es la causa más extendida de deficiencia de vitamina B12 debido a la falta del factor intrínseco, una glicoproteína necesaria para la absorción de la vitamina B12 en el tracto gastrointestinal.

El factor intrínseco es producido por las células de la pared gástrica; la vitamina B12, a su vez, es necesaria para la formación de glóbulos rojos.

Por lo general, la anemia perniciosa no aparece antes de los 30 años y se diagnostica a una edad media de 60 años. De hecho, un estudio reciente ha revelado que casi el 2 % de las personas mayores de 60 años sufren de anemia perniciosa y que las mujeres son un poco más propensas que los hombres. La enfermedad afecta a cualquier grupo étnico, pero es más común en poblaciones de origen escandinavo o del norte de Europa. Los pacientes con anemia perniciosa desarrollan autoanticuerpos contra las células parietales de la mucosa gástrica y el factor intrínseco. Los anticuerpos contra las células parietales tienen una sensibilidad del 80 al 90 %, pero se pueden detectar hasta un 5 % en sujetos sanos; los anticuerpos contra el factor intrínseco muestran una sensibilidad del 50-70 % con una especificidad del 100 % en sujetos sanos.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Intrinsic Factor está listo para su uso y sirve para la determinación de anticuerpos IgG antifactor intrínseco en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

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

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones (REF. 86090).

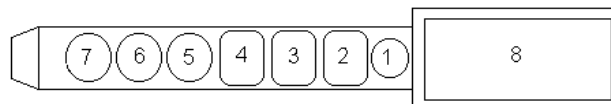
El contenido del kit es suficiente para realizar 12 determinaciones (REF. 86090/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases de 6 unidades cada uno (REF. 86090).

2 envases de 6 unidades cada uno (REF. 86090/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con factor intrínseco recombinante.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina 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, en solución tampón fosfato que contiene fenol al 0,05 % y Bronidox al 0,02 %.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente,

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0,175 ml

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

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0,425 ml

Contenido: Suero diluido que contiene anticuerpos 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

AMBIGUO: cuando el resultado está comprendido entre 12 y 18 AU/ml

En caso de resultado ambiguo se aconseja repetir la prueba. Si el resultado sigue siendo ambiguo, 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 3,0-300,0 AU/ml.

Para las muestras >300,0 AU/ml repetir la prueba diluyéndolas previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Fueron analizadas 4 muestras (2 Negativa y 2 Positivas) a las que se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (44 – 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, a excepción de la hemoglobina.

14. REACCIONES CRUZADAS

Fueron analizadas 39 muestras, positivas para el virus del herpes (3), virus de la rubéola (4), Helicobacter pylori (4), varicela zoster (3), Citomegalovirus (4), virus de Epstein-Barr (4), Toxoplasma gondii (6) y ANA (11).

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 309 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Total	40	269	309

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100,0 % CI₉₅ %: 91,2-99,9

Porcentaje de concordancia negativa (~ especificidad diagnóstica):

100,0 % CI₉₅ %: 98,6-100,0

Valor predictivo positivo (VPP): 100,0 % IC₉₅ %: 100,0-100,0

Valor predictivo negativo (VPN): 100,0 % IC₉₅ %: 100,0-100,0

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

16. PRECISIÓN

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (AU/ml)	CV %	Media (AU/ml)	CV %
1	66,6	4,5	55,2	13,0
2	14,2	3,4	12,1	11,2
3	3,4	11,5	3,5	12,0

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (AU/ml)	CV %	Media (AU/ml)	CV %
1	3,4	9,1	57,0	9,1
2	57,5	11,5	12,3	14,3
3	20,8	8,8	3,7	13,5

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Carmel, R. (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
2. Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician, 67: 979-986.
3. Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious Anaemia. Autoimmunity 37 : 357-361.
4. Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious Anaemia. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
5. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez¹; Karen Shackelford.
6. Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres^{1,2}Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.

7. Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.



MODE D'EMPLOI

CHORUS FACTEUR INTRINSÈQUE

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgG anti-facteur intrinsèque

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

Méthode immuno-enzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-facteur intrinsèque dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux analyseurs Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'anémie pernicieuse représente le stade final d'une gastrite auto-immune (gastrite de type A) menant à la destruction de la muqueuse gastrique. Un faible pourcentage de patients (10-15 %) sujets à une gastrite auto-immune développent une anémie pernicieuse qui, dans les pays occidentaux, est la cause la plus répandue de carence en vitamine B12, due à l'absence du Facteur Intrinsèque, une glycoprotéine nécessaire à l'absorption de la vitamine B12 dans le tractus gastro-intestinal. Le facteur intrinsèque est produit par les cellules de la paroi gastrique ; La vitamine B12, quant à elle, est nécessaire à la formation des globules rouges.

L'anémie pernicieuse n'apparaît généralement pas avant 30 ans et est diagnostiquée à 60 ans en moyenne. De fait, une étude récente a révélé que près de 2 % des personnes de plus de 60 ans souffrent d'anémie pernicieuse et que les femmes sont légèrement plus touchées que les hommes. La maladie affecte tous les groupes ethniques, mais est plus fréquente dans les populations d'origine scandinave ou nord-européenne.

Les patients atteints d'anémie pernicieuse développent des auto-anticorps contre les cellules pariétales de la muqueuse gastrique et contre le facteur intrinsèque. Les anticorps contre les cellules pariétales ont une sensibilité de 80 à 90 % mais peuvent être détectés jusqu'à 5 % chez des sujets sains ; les anticorps dirigés contre le facteur intrinsèque présentent une sensibilité de 50 à 70 % avec une spécificité de 100 % chez des sujets sains.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus Intrinsic Factor est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps IgG anti-facteur intrinsèque avec les analyseurs 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. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et constatées négatives pour la recherche de HbsAg et des anticorps anti-HIV-1, anti-HIV-2 et anti-HCV. 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 puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présente des corps étrangers dans le puit de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur Chorus/Chorus TRIO, en respectant scrupuleusement les Instructions d'Utilisation et le Manuel de l'Utilisateur de l'instrument.

Le kit peut uniquement être utilisé avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé dans l'appareil est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse

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

5. S'assurer que l'analyseur Chorus/Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel de l'utilisateur).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique 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. 86090).

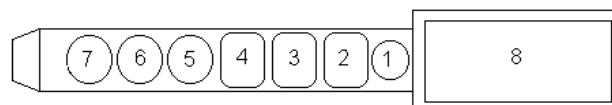
Le kit permet de réaliser 12 analyses (RÉF. 86090/12).

DD DISPOSITIFS

6 boîtes de 6 dispositifs chacune (RÉF. 86090).

2 boîtes de 6 dispositifs chacune (RÉF. 86090/12).

Description :



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE
Sensibilisé au facteur intrinsèque 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, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0,05 % et Bronidox 0,02 %.

Position 1 : PUIITS VIDE

Où l'échantillon a été transféré.

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

CALIBRATOR CALIBREUR **1 x 0,175 ml**

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

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF **1 x 0,425 ml**

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

AUTRE MATÉRIEL REQUIS ET 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
CALIBREUR	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 décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

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

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté de la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir expulsé l'air.
2. Contrôler l'état du dispositif à l'œil nu comme indiqué 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 calibre à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'analyseur 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 analysé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est >18 AU/ml

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 12 AU/ml

AMBIGU : lorsque le résultat est compris entre 12 et 18 AU/ml

En cas de résultat ambigu, répéter le dosage. Si le résultat reste 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 de calibrage 3,0-300,0 AU/ml.

Pour les échantillons >300,0 UA/ml, répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans un diluant de contrôle/échantillon négatif (RÉF. 83607- non fourni avec le kit).

13. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

4 échantillons ont été dosés (2 négatifs et 2 positifs) auxquels ont été ajoutés les substances interférentes suivantes :

Facteur rhumatoïde (44 - 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 (à l'exception de l'hémoglobine).

14. RÉACTIONS CROISÉES

39 échantillons, positifs pour Herpes virus (3), Virus de la rubéole (4), Helicobacter pylori (4), Varicella zoster (3), Cytomégalovirus (4), Virus Epstein-Barr (4), Toxoplasma gondii (6) et ANA (11) ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été observée.

15. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 309 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et un autre kit du commerce

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

		Référence		
		+	-	Total
	Diesse	40	0	40
	-	0	269	269
	Total	40	269	309

Taux de concordance positive : (~ sensibilité diagnostique) :

100,0 % CI₉₅ % : 91,2 à 99,9

Taux de concordance négative : (~ spécificité diagnostique) :

100,0 % CI₉₅ % : 98,6 à 100,0

Valeur prédictive positive (PPV) : 100,0 % IC₉₅ % : 100,0 à 100,0

Valeur prédictive négative (NPV) : 100,0 % IC₉₅ % : 100,0 à 100,0

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

16. PRÉCISION

Échantillon	Intra-séance		Entre les séances	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	66,6	4,5	55,2	13,0
2	14,2	3,4	12,1	11,2
3	3,4	11,5	3,5	12,0

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	3,4	9,1	57,0	9,1
2	57,5	11,5	12,3	14,3
3	20,8	8,8	3,7	13,5

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Carmel, R. (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
2. Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician, 67: 979-986.
3. Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious Anaemia. Autoimmunity 37 : 357-361.
4. Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious Anaemia. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
5. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez¹; Karen Shackelford.
6. Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres^{1,2}Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.

7. Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS FATOR INTRÍNSECO

Para a determinação semiquantitativa de IgG anti-fator intrínseco

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

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

2. INTRODUÇÃO

A anemia perniciosa é a fase final de uma gastrite auto-imune (gastrite do tipo A) que leva à destruição da mucosa gástrica. Uma pequena percentagem de doentes (10-15%) com gastrite auto-imune desenvolve Anemia Perniciosa, que é a causa mais comum de deficiência de vitamina B12 nos países ocidentais, devido à falta do Fator Intrínseco, uma glicoproteína necessária para a absorção da vitamina B12 no trato gastrointestinal.

O fator intrínseco é produzido pelas células da parede gástrica; a vitamina B12, por sua vez, é necessária para a formação de glóbulos vermelhos.

A anemia perniciosa não aparece geralmente antes dos 30 anos de idade e é diagnosticada com uma idade média de 60 anos. Um estudo recente revelou que quase 2% das pessoas com mais de 60 anos sofrem de anemia perniciosa e que as mulheres são ligeiramente mais suscetíveis do que os homens. A doença afeta todos os grupos étnicos, mas é mais comum em populações de origem escandinava ou do Norte da Europa.

Os doentes com anemia perniciosa desenvolvem auto-anticorpos para as células parietais da mucosa gástrica e para o Fator Intrínseco. Os anticorpos contra as células parietais têm uma sensibilidade de 80-90% mas podem ser detetados até 5% em indivíduos saudáveis; os anticorpos contra o Fator Intrínseco mostram uma sensibilidade de 50-70% com uma especificidade de 100% em indivíduos saudáveis.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Intrinsic Factor está pronto a ser utilizado para a determinação de anticorpos IgG anti-Fator Intrínseco 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. ADVERTÊNCIAS E 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 infetado 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 infetados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

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

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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86090).

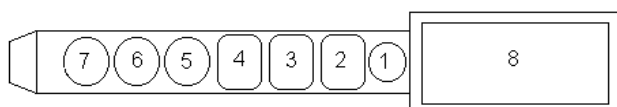
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86090/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86090).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86090/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com o Fator Intrínseco 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 de proteína salina com Proclin (0,1%)

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0,175 ml

Conteúdo: Soro diluído contendo anticorpos e conservante. Líquido, pronto a usar

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0,425 ml

Conteúdo: Soro diluído contendo anticorpos e conservante. Líquido, pronto a usar

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

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

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

DISPOSITIVOS 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 realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo 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 do soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO quando o resultado é > 18 AU/ml
 NEGATIVO: quando o resultado for <12 UA/ml
 EQUÍVOCO: quando o resultado estiver entre 12 e 18 UA/ml
 Se o resultado for duvidoso, repetir o teste. Se o resultado continuar indeterminado, 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 3,0-300,0 AU/ml.

Para amostras > 300,0 UA/ml repetir o teste pré-diluindo a amostra em Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - não fornecido com o kit).

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 4 amostras (2 Negativa e 2 Positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44-220 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 (com exceção da hemoglobina).

14. REATIVIDADE CRUZADA

Foram testadas 39 amostras, positivas para o vírus do Herpes (3), vírus da Rubéola (4), Helicobacter pylori (4), Varicella zoster (3), Citomegalovirus (4), vírus Epstein-Barr (4), Toxoplasma gondii (6) e ANA (11).

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 309 amostras com o kit Diesse e com outro kit comercializado

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	40	0	40
	-	0	269	269
	Total	40	269	309

Percentagem de concordância positiva (~Sensibilidade Diagnóstica):

100.0% CI_{95%}: 91,2-99,9

Percentagem de concordância negativa: (~ Especificidade de Diagnóstico):
 100.0% CI_{95%}: 98,6-100,0
 Valor Preditivo Positivo (VPP): 100.0% IC_{95%}: 100,0-100,0
 Valor Preditivo Negativo (VPN): 100.0% IC_{95%}: 100,0-100,0
 O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 1.

16. PRECISÃO

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (UA/ml)	CV%	Média (UA/ml)	CV%
1	66,6	4,5	55,2	13,0
2	14,2	3,4	12,1	11,2
3	3,4	11,5	3,5	12,0

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (UA/ml)	CV%	Média (UA/ml)	CV%
1	3,4	9,1	57,0	9,1
2	57,5	11,5	12,3	14,3
3	20,8	8,8	3,7	13,5

17. BIBLIOGRAFIA

1. Carmel, R. (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol, 89: 74-77 (11): 2617-20.
2. Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician, 67: 979-986.
3. Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious Anaemia. Autoimmunity 37 : 357-361.
4. Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious Anaemia. NEJM vol. 337 : 1441-1448.
5. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-
Pernicious Anemia. Authors: Nicole M. Rodriguez¹; Karen Shackelford.
6. Optimal management of pernicious anemia; Emmanuel Andres^{1,2}Khalid Serraj; Department of Internal Medicine, Diabetes, and Metabolic Disorders, Competence Center of Autoimmune, Cytopenias in Adults, University, Hospital of Strasbourg, France; 3 Department of Internal Medicine, University Hospital of Oujda, Oujda, Morocco; Journal of Blood Medicine, 7 september 2012.
7. Diagnosis and classification of pernicious anemia Nicola Bizzaro Antonio Antico Autoimmunity Reviews Volume 13, Issues 4–5, April–May 2014, Pages 565-568.

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