

# CHORUS



# GBM

**REF** 86070

**REF** 86070/12

DIESE Diagnostica Senese  
S.p.A.  
Via delle Rose, 10  
53035 Monteriggioni (Siena)  
Italy

	Kapitola Sectiune Section
Změny provedené v aktuální verzi Modificari introduse in versiunea curenta Changes introduced in the current revision	<b>REF</b> - 5 - 9





## NÁVOD NA POUŽITÍ

### CHORUS GBM

## Pro semikvantitativní stanovení IgG protilátek proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM)

### Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

#### 1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgG protilátek proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM) v lidském séru za použití **jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.**

#### 2. ÚVOD

Goodpastureův syndrom je autoimunitní porucha ledvin, pojmenovaná po Ernestu Goodpasturovi, který jako první popsal koexistenci fatálního plicního krvácení s proliferací glomerulonefritidou.

V současné době je tento syndrom považován za autoimunitní poruchu, která se skládá z triády glomerulonefritidy, plicního krvácení a formace protilátek proti bazální membráně glomerulů. Výskyt Goodpasturova syndromu se pohybuje zhruba od 0,5 do 1 případu na milion obyvatel za rok. Goodpastureův syndrom je z lékařského hlediska velmi naléhavý, protože bez léčby se u něj pohybuje úmrtnost mezi 75 a 90 % následkem selhání ledvin a respirační insuficience. Histologicky tuto poruchu charakterizuje kontinuální lineární ukládání imunoglobulinů na bazální membránu glomerulů (GBM). Demonstrace přímou imunofluorescencí na ledvinové biopsii je možná. Nejmodernější postup v serologii v současné době představuje stanovení kolujících autoprotilátek proti C-terminálu  $\alpha$ -3 řetězce kolagenu typu VI.

Bazální membrány glomerulů (GBM) jsou anatomickou bariérou v místě styku epitelu s pojivovou tkání. Kolagen typu VI je výlučný pro GBM a tvoří prostředí v němž jsou integrovány další molekuly (např. laminin, entactin). Tři z šesti  $\alpha$ -řetězců (polypeptidy s více než 1650 aminokyselinami) tvoří trojitou spirálu a charakterizují strukturní podjednotky kolagenu typu IV.

Goodpasturovy specifické anti-GBM autoprotilátky jsou zaměřeny proti 29 kDa NC1 doméně  $\alpha$ -3 řetězce kolagenu typu VI GBM. Na základě charakterizace antigenu se dnes diagnóza provádí prokázáním triády glomerulonefritidy, plicního krvácení a protilátek proti  $\alpha$ -3 řetězci kolagenu typu VI GBM.

#### 3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus GBM je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM), v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunisorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi.

Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se provede inkubace s konjugátem složeným z anti-lidských imunoglobulinů konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Konjugát, který nereagoval, je eliminován a přidá se peroxidázový substrát. Zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Arbitrární jednotky (AU/ml).

#### 4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

##### URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

**Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.**

Likvidace odpadu: S použitými vzorky sér, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

##### Informace 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 chlomanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chloman sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlité potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlomanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chloman sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s

obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkláděte do autoklávu.

### **Opatření pro správné provedení testu**

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

1. Nástroje vykazující modré zbarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagentie a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagentie, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze zařízení).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
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. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
12. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

### **5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ**

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86070).

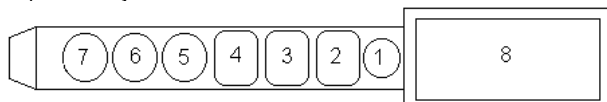
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86070/12).

#### **DD** NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86070).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86070/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená proteinem Glomerulární Bazální Membrány

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: solný bílkovinný roztok s Proclinem (0.1%)

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: monoklonální anti-lidské protilátky IgG značené křenovou peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

**Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu,** otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vytlačte vzduch a **uzavřete** stisknutím. Skladujte při teplotě 2–8 °C.

**CALIBRATOR** KALIBRÁTOR 1 x 0.175 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM) a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

**CONTROL +** POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.425 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM) a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

#### **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 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

#### **6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ**

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

**Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.**

#### **Reagentie mají po otevření omezenou stabilitu:**

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
POZ. KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2–8 °C

## 7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

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 skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20 °C.

Rozmrazovat se smí maximálně 3krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

## 8. POSTUP

- Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
- Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
- Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
- Umístěte nástroje do zařízení Chorus/zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

## 9. OVĚŘENÍ TESTU

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

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus/Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v Arbitrárních Jednotkách (AU/ml), vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 18.0

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12.0

SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 12.0 a 18.0

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

## 11. OMEZENÍ

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 jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

## 12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 3.0-100.0 AU/ml

Pro vzorky > 100.0 AU/ml znova vzorek otestujte naředěný v ředidle pro negativní kontrolní vzorek (PF83607 – se v rámci soupravy nedodává).

## 13. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 5 vzorků (2 negativní, 1 Cut-Off a 2 pozitivní) obsahujících následující rušivé substance.

Rvmatoidní faktor (44-220 IU/ml)

Bilirubin (4.5-45 mg/dl)

Triglyceridy (10-250 mg/dl)

Hemoglobin (5-30 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séra nezměnila výsledky testu.

## 14. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 6 vzorky pozitivní na β-2-Glycoprotein, Cardiopilin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.

nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

## 15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 74 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Celkem	11	63	74

Procento pozitivní shody (~diagnostická citlivost):

100.0% CI<sub>95%</sub>: 74.1-99.7

Procento negativní shody (~diagnostická specifčnost):

98.4% CI<sub>95%</sub>: 91.5-99.7

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s Cohenovou Kappa dosahující 0.96.

## 16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr AU/ml	CV %	Průměr AU/ml	CV %
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi	
	Průměr AU/ml	CV %
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

### 17. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.  
Via delle Rose 10  
53035 Monteriggioni (Siena)  
Italy





## INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

### CHORUS GBM

#### Pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor IgG impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale (GBM)

#### Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

##### 1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor de clasa IgG impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale (GBM) in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

##### 2. INTRODUCERE

Sindromul Goodpasture este o disfunctie autoimuna a richinilor, denumita dupa Ernest Goodpasture, care a fost primul care a descris coexistenta unei hemoragii fatale pulmonare insotite de glomerulonefrite proliferative. In zilele de azi, sindromul este considerat a fi o tublurare autoimunitara constand din grup de glomerulofrite, hemoragie pulmonara si formatiune de anticorpi bazali anti-glomerulari. Incidenta sindromului Goodpasture variaza intre 0.5 si 1 cazuri pe milion de locuitori pe an. Sindromul Goodpasture reprezinta o urgenta medicala cu o rata de fatalitate de 75 pana la 90 %, datorata insuficientei renale si respiratorii, daca nu este tratata. Disfunctia este caracterizata histologic prin depunerea linear continua a imunoglobulinelor de-alungul membranei glomerulare bazale (GBM). Demonstratia prin imunofluorescenta directa pe biopsia rinichiului este posibila. In prezent, determinarea autoanticorpilor circulanti impotriva C-terminus a lantului  $\alpha$ -3 din tipul VI colagen este metoda standard serologica.

Membranele glomerulare bazale (GBM) sunt o bariera anatomica de cate ori epitelia intalneste tesut conjunctiv. Tipul VI colagen este exclusiv pentru GBM si formeaza o matrice in care moleculele aditionale (ex. Laminin, Entactin) sunt integrate. Trei din sase lanturi  $\alpha$  (polipeptide cu mai mult de 1650 aminoacizi) formeaza un triplu helix si caracterizeaza subunitatile structurale de tipul IV.

Anticorpii Goodpasture specifici anti-GBM sunt directionati impotriva domeniului de 29 kDa NC1 al lantului  $\alpha$ -3 al tipului VI colagen al GBM. Urmand caracterizarea antigenului, diagnosticul este stabilit astazi prin demonstrarea grupului de glomerulonefrite, hemoragia pulmonara si anticorpi impotriva lantului  $\alpha$ -3 al tipului VI colagen al GBM.

##### 3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus GBM este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgG impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale (GBM), pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antigenul este legat de faza solida.

Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubarea cu serul uman diluat. Dupa spalariile efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi imunoglobuline anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean.

Conjugatul care nu a participat la reactie este eliminat si este adaugat substratul de peroxidaza. Culoarea care se dezvolta este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate in Unitati Arbitrare (AU/ml).

##### 4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

#### NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Acest kit contine materiale de origine umana, care au fost testate si au indicat un rezultat negativ pentru prezenta HBsAg si pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-HCV, prin testarea cu ajutorul metodelor aprobate de catre FDA. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi garantii complete cu privire la absenta agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manevrate ca fiind potential infectioase. In cazul manevrarii materialelor de origine umana, trebuie urmate toate masurile de precautie adoptate in mod normal in practica de laborator.

Indeprtarea deseurilor: probele de ser, calibratorii si stripurile utilizate trebuie tratate ca fiind reziduuri infectioase si eliminate conform legii.

#### Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/ Chorus TRIO.
4. Consultati materialul corespunzator - Fisa Tehnica de Securitate (disponibila la cerere) pentru toate informatiile legate de securitatea reactivilor continuti de kit.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie

tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

### Masuri de Precautie Analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat. Nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
9. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
10. Folosirea probelor accentuat hemolizate, lipemice, icterice, din seruri necoagulate complet sau din probe care prezinta contaminare microbiana, pot constitui toate surse de eroare.
11. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
12. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Tampon de Spalare Autoimunitate (Ref. 86004).**

### 5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 86070).

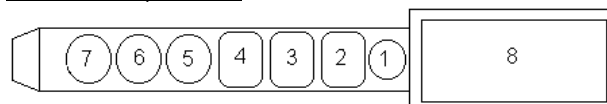
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 86070/12).

#### DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86070).

2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86070/12).

#### Descrierea dispozitivului:



**Pozitia 8:** Spatiu pentru aplicarea codului de bare

**Pozitia 7:** gol

**Pozitia 6:** GODEUL MICROPLACII

Captusit cu Glomerular Basement Membrane protein

**Pozitia 5:** GODEUL MICROPLACII necaptusit

**Pozitia 4:** TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL si H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.01% stabilizat in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

**Pozitia 3:** PROBA DILUANT

Continut: solutie proteica salina cu Proclin (0.1%)

**Pozitia 2:** CONJUGAT

Continut: anticorpi monoclonali anti-umani IgG tapetate cu peroxidaza din hrean, in solutie tampon fosfat continand 0.05% fenol and 0.02% Bronidox.

**Pozitia 1:** GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

**Utilizare:** lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica gel, scoateti aerul din punga si sigilati prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

#### CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

**Continut:** Ser uman diluat continand IgG anticorpi impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

#### CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 ml

**Continut:** Ser uman diluat continand IgG anticorpi impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

#### MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMUNITY (REF) 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF) 83609
- SANITIZING SOLUTION (REF) 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF) 83607
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilata sau deionizata
- Siiclarie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

## 6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

DISPOZITIVELE	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATORUL	8 saptamani la 2/8°C
CONTROLUL POZITIV	8 saptamani la 2/8°C

## 7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din ser recoltat normal din vena si manevrata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator.

Posibile consecinte aparute in urma folosirii altor lichide biologice, nu sunt cunoscute.

Serul proaspat poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C si poate fi decongelat de maxim 3 ori.

Nu tineti probele in frigidere care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare.

Neutralizarea la caldura poate duce la rezultate eronate. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

## 8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitoul 4, Masuri de Precautie Analitice.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

## 9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare al instrumentului. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca serul de control are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

Daca rezultatul serului de control continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

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

## 10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in Unitati Arbitrare (AU/ml) calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

Testul pe serul examinat, poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este > 18.0

NEGATIV: cand rezultatul este < 12.0

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 12.0 si 18.0

Daca rezultatul este incert/echivoc, repetati testul. Daca ramane incert/echivoc, colectati o noua proba de ser.

## 11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient.

Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

## 12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare: 3.0-100.0 AU/ml.

Pentru probele cu un titru > 100.0 AU/ml, repetati testul pre-diluant proba cu Negative Control Sample Diluent (PF83607 – care nu este furnizat impreuna cu kitul).

## 13. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 5 probe (2 negative, 1 Cut-Off si 2 pozitive) continand urmatoarele substante interferente:

Factor Reumatoid (44-220 IU/ml)

Bilirubina (4.5-45 mg/dl)

Trigliceride (10-250 mg/dl)

Hemoglobina (5-30 mg/ml)

Prezenta in serul testat a substantelor interferente mentionate mai sus, nu au modificat rezultatele testului.

## 14. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 6 probe pozitive la: β-2-Glycoprotein, Cardioplipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

## 15. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 74 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmator:



		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Total	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului):

100.0% CI<sub>95%</sub>: 74.1-99.7

Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului):

98.4% CI<sub>95%</sub>: 91.5-99.7

Acordul dintre cele doua metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.96.

## 16. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Proba	Precizia intre loturi	
	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3
2	46.6	10.8
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

## 17. BIBLIOGRAFIE

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004



DIESE Diagnostica Senese S.p.A.  
Via delle Rose 10  
53035 Monteriggioni (Siena)  
Italy





## CHORUS GBM

**For the semiquantitative determination of IgG antibodies anti-Glomerular Basement Membrane protein (GBM)**

**For *In Vitro* Diagnostic Use Only**

### 1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgG class antibodies against Glomerular Basement Membrane protein (GBM) in human serum, using a disposable device applied on the chorus and Chorus TRIO instruments.

### 2. INTRODUCTION

Goodpasture syndrome is an autoimmune disorder of the kidneys, named after Ernest Goodpasture, who was the first to describe the coexistence of a fatal lung hemorrhage coming along with proliferative glomerulonephritis. Nowadays, this syndrome is considered to be an autoimmune disorder consisting of a triad of glomerulonephritis, lung hemorrhage and anti-glomerular basement antibodies formation. Incidence of the Goodpasture syndrome ranges about 0.5 to 1 cases per million inhabitants per year. Goodpasture syndrome is of high medical emergency with a case fatality rate of 75 to 90 %, due to kidney and respiratory insufficiency, if not treated. The disorder is characterized histologically by continuous linear deposition of immunoglobulins along the glomerular basement membrane (GBM). Demonstration by direct immunofluorescence on kidney biopsies is possible. Today, the determination of circulating autoantibodies against the C-terminus of the  $\alpha$ -3 chain of type VI collagen is the state-of-the art serology.

Glomerular basement membranes (GBM) are an anatomical barrier wherever epithelia meets connective tissue. Type VI collagen is exclusive to GBM and forms a matrix in which additional molecules (e.g. Laminin, Entactin) are integrated. Three out of six  $\alpha$ -chains (polypeptides with more than 1650 amino acids) are forming a triple helix and characterize the structural subunits of type IV collagen.

Goodpasture specific anti-GBM autoantibodies are directed against the 29 kDa NC1 domain of the  $\alpha$ -3 chain of type VI collagen of GBM. Following the characterization of the antigen, diagnosis is established today by demonstrating the triad of glomerulonephritis, lung hemorrhage and antibodies against the  $\alpha$ -3 chain of type VI collagen of GBM.

### 3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus GBM device is ready to use for the detection of IgG antibodies against Glomerular Basement Membrane protein (GBM), in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

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

The unbound conjugate is eliminated and the peroxidase substrate is added. The colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

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

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

### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

#### FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

#### Health and Safety Information

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

clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

### Analytical Precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged. Do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use and the Instrument Operating Manual must be carefully followed.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

### 5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86070).

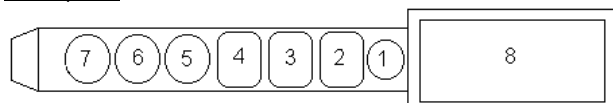
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86070/12).

### **DD** DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86070).

2 packages each containing 6 devices (REF 86070/12).

Description:



**Position 8:** Space for application of bar code label

**Position 7:** Empty

**Position 6:** MICROPLATE WELL coated with Glomerular Basement Membrane protein

**Position 5:** Uncoated MICROPLATE WELL

**Position 4:** TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

**Position 3:** SAMPLE DILUENT

Contents: saline proteic solution with Proclin (0.1%)

**Position 2:** CONJUGATE

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

**Position 1:** EMPTY WELL

in which undiluted serum must be added

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

**CALIBRATOR** CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Glomerular Basement Membrane protein (GBM) and preservative. Liquid, ready for use.

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

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Glomerular Basement Membrane protein (GBM) and preservative. Liquid, ready for use.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

### 6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

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

## 8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the instrument Operating Manual.

## 9. TEST VALIDATION

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 18.0

NEGATIVE: when the result is < 12.0

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 12.0 and 18.0

If the result is doubtful/equivocal, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, collect a new serum sample.

## 11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

The test, indeed, can not be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

## 12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0 – 100.0 AU/ml.

For samples > 100.0 AU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (PF83607-not supplied with the kit).

## 13. ANALITICAL SPECIFICITY

5 samples (2 Negative, 1 Cut-Off and 2 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid factor (44-220 IU/ml)

Bilirubin (4.5-45 mg/dl)

Triglycerides (10-250 mg/dl)

Hemoglobin (5-30 mg/ml)

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

## 14. CROSS-REACTIONS

6 samples, positive to β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2 were tested.

No significant cross-reactions were found.

## 15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 74 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Tot.	11	63	74

Percent Positive Agreement (-Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI<sub>95%</sub>: 74.1-99.7

Percent Negative Agreement: (-Diagnostic Specificity):

98.4% CI<sub>95%</sub>: 91.5-99.7

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.96.

## 16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean AU/ml	CV%	Mean AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Sample	Between lots	
	Mean AU/ml	CV%
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-













## 17. REFERENCES

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.  
Via delle Rose 10  
53035 Monteriggioni (Siena)  
Italy



	CZ Datum výroby RO Data fabricatiei EN Date of manufacture
	CZ Použitelné do RO A se folosi pana la EN Use By
	CZ Nepoužívejte opakovaně RO A nu se refolosi EN Do not reuse
	CZ Pozor, čtěte přiložené dokumenty RO Atentie, consultati documentele insotitoare EN Caution,consult accompanying
	CZ Výrobce RO Productator EN Manufacturer
	CZ Obsah stačí na < n > testů RO Continunt sufficient pt <n> teste EN Contains sufficient for <n> tests
	CZ Teplotní omezení RO Limita da temperatura EN Temperature limitation
	CZ Čtěte návod k použití RO Pentru utilizzare consultati instructiunile EN Consult Instructions for Use
	CZ Biologická rizika RO Risk biologic EN Biological risks
	CZ Katalogové číslo RO Numar de catalog EN Catalogue number
	CZ Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i> RO Dizpositiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i> EN In Vitro Diagnostic Medical Device
	CZ Kód šarže RO Lot EN Batch code