

CHORUS



GBM

REF 86070

REF 86070/12

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

	Chapitre Κεφάλαιο Section
Modifications apportées à la révision courante Τροποποιήσεις που εισήχθησαν στην τρέχουσα διόρθωση Changes introduced in the current revision	REF - 5 - 9





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS GBM

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM)

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Le Syndrome de Goodpasture est une maladie auto-immunitaire des reins, dénommée ainsi suite aux études conduites par Ernest Goodpasture, qui fut le premier à décrire la coexistence d'une hémorragie pulmonaire létale et d'une glomérulonéphrite proliférative.

Aujourd'hui, ce syndrome est considéré une maladie auto-immunitaire constituée de la triade de glomérulonéphrite, hémorragie pulmonaire et formation d'anticorps dirigés contre la membrane glomérulaire basale. L'incidence d'un tel syndrome varie d'environ 0.5 à 1 cas/million de personnes par an. Elle représente une urgence médicale grave avec une incidence de décès de 75 - 90 % si elle n'est pas traitée, à cause des insuffisances rénale et respiratoire. La dysfonction est caractérisée histologiquement par la formation linéaire continue d'immunoglobulines le long de la membrane glomérulaire basale (GBM). L'immunofluorescence directe sur biopsies rénales peut être utilisée pour mettre en évidence ce dépôt. Aujourd'hui, la méthode sérologique en usage est constituée de la détermination des auto-anticorps dirigés contre le terminal-C de la chaîne α -3 du collagène type VI.

Les membranes glomérulaires basales (GBM) constituent une barrière anatomique là où le tissu épithélial entre en contact avec le tissu conjonctif. Le collagène de type VI est exclusif pour la GBM et forme une matrice dans laquelle sont intégrées d'autres molécules (par exemple. Laminine, Entactine). Des six chaînes- α (polypeptides avec plus de 1650 aminoacides), trois forment une hélice triple et caractérisent les sous-unités structurelles du collagène de type IV.

Les auto-anticorps spécifiques anti-GBM de Goodpasture sont dirigés contre le domaine NC1 de 29 kDa de la chaîne α -3 du collagène de type VI de la GBM. Suite à la

caractérisation de l'antigène, le diagnostique est aujourd'hui établi à travers la démonstration des trois dysfonctions: glomérulonéphrite, hémorragie pulmonaire et anticorps dirigés contre la chaîne α -3 du collagène de type VI de la GBM.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus GBM est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM), dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigène se lie à la phase solide.

En le faisant incuber avec du sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines conjuguées avec du peroxyde de raifort.

Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

La couleur qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum en examen.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour réaliser le test lorsqu'ils sont appliqués aux appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le résultat est exprimé en Unités Arbitraires (AU/ml).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour la recherche de HBsAg que pour la recherche des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériau d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

Mise au rebut des résidus : les échantillons de sérum, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.

4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à une concentration de 1 % pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée 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 renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

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. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
5. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
9. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
10. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum pas totalement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **Contrôler si l'instrument a la connexion avec la Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004).**

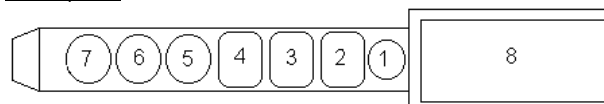
5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86070).
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86070/12).

DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86070).
2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86070/12).

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec protéine de la Membrane Basale Glomerulaire

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/ml et H₂O₂ à 0.01 % stabilisés dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH = 3.8)

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu : solution saline protéique contenant du Proclin (0.1%)

Position 2 : CONJUGUE

Contenu: anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués avec la peroxydase, dans une solution tamponnée au phosphate contenant du phénol à 0.05% et du Bronidox à 0.02%.

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et fermer le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.175 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-protéine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM) et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-protéine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM) et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)

- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5% d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au sérum de contrôle (voir paragraphe 9 : Validation du test).

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé conformément aux procédures standard 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 subir jusqu'à un maximum de 3 décongélations.

Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongélation, agiter avec soin avant le dosage.

La non-activation à la chaleur peut provoquer des résultats erronés.

La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires pour réaliser les examens et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.

2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits n° 1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du sérum de contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

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

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en Unités Arbitraires (AU/ml) calculées sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Le test sur le sérum examiné peut être interprété de la manière suivante :

POSITIF quand le résultat est > 18.0

NÉGATIF quand le résultat est < 12.0

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 12.0 et 18.0

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

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

12. PLAGES D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 3.0-100.0 AU/ml.

Pour les échantillons > 100.0 AU/ml répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - non fourni avec le coffret).

13. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

6 échantillons ont été testés (2 négatifs, 1 cut-off et 2 positifs), auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Facteur rhumatoïde (44-220 IU/ml)
 Bilirubine (4.5-45 mg/dl)
 Triglycérides (10-250 mg/dl)
 Hémoglobine (5-30 mg/ml)

La présence dans le sérum examiné des perturbateurs susmentionnés n'altère pas le résultat du test.

14. RÉACTIONS CROISÉES

6 échantillons positifs aux β -2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2 ont été testés.
 Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 74 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Les données de l'essai sont schématisées ci-après :

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

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100.0% CI_{95%}: 74.1-99.7

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

98.4% CI_{95%}: 91.5-99.7

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.96.

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne AU/ml	CV %	Moyenne 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	-

Échantillon	INTER-LOTS	
	Moyenne AU/ml	CV %
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. BIBLIOGRAPHIE

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)
 Italie





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS GBM

Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG εναντίον της πρωτεΐνης της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM)

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG εναντίον της πρωτεΐνης της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM) στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Σύνδρομο Goodpasture είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα των νεφρών και ονομάστηκε έτσι μετά τις μελέτες που έκανε πάνω σ' αυτό ο Ernest Goodpasture, ο πρώτος που περιέγραψε την συνύπαρξη μίας θανατηφόρου πνευμονικής αιμορραγίας συνδυασμένης με μία εκφυτική σπειραματονεφρίτιδα.

Σήμερα αυτό το σύνδρομο θεωρείται ως ένα αυτοάνοσο νόσημα που έχει ως συμπτώματα την σπειραματονεφρίτιδα, την πνευμονική αιμορραγία και τον σχηματισμό αντισωμάτων που κατευθύνονται εναντίον της βασικής σπειραματικής μεμβράνης. Το ποσοστό εμφάνισης αυτού του συνδρόμου ποικίλλει από 0.5 μέχρι 1 περίπτωση/εκατομμύριο ατόμων το χρόνο. Πρόκειται για επείγον ιατρικό περιστατικό με ποσοστό θνησιμότητας που φτάνει το 75-90 %, σε περίπτωση που δεν τύχει θεραπευτικής αγωγής, λόγω νεφρικής και αναπνευστικής ανεπάρκειας. Η δυσλειτουργία χαρακτηρίζεται, ιστολογικά από τον συνεχή γραμμικό σχηματισμό ανοσοσφαιρινών κατά μήκος της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM). Ο άμεσος ανοσοφθορισμός πάνω σε νεφρικό υλικό βιοψίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί μία τέτοια διάγνωση. Σήμερα η χρησιμοποιούμενη ορολογική μέθοδος αποτελείται από τον προσδιορισμό των αυτοαντισωμάτων που κατευθύνονται εναντίον του τερματικού-C της αλυσίδας α-3 του κολλαγόνου τύπου VI.

Οι βασικές σπειραματικές μεμβράνες (GBM) αποτελούν ένα ανατομικό φράγμα εκεί όπου ο επιθηλιακός ιστός έρχεται σε επαφή με τον συνδετικό ιστό. Το κολλαγόνο τύπου VI είναι κύριο συστατικό της GBM και σχηματίζει ένα δίκτυο στο οποίο ενώνονται άλλα μόρια (π.χ. Λαμινίνη, Εντακτίνη). Από τις έξι αλυσίδες-α (πολυπεπτιδία με περισσότερα από 1650 αμινοξέα), τρεις σχηματίζουν μία τριπλή έλικα που χαρακτηρίζουν τις δομικές υπο-μονάδες του κολλαγόνου

τύπου IV. Τα ειδικά αυτοαντισώματα αντι-GBM του Goodpasture κατευθύνονται εναντίον της περιοχής NC1 29 kDa της αλυσίδας α-3 του κολλαγόνου τύπου VI της GBM. Μετά από τον χαρακτηρισμό του αντιγόνου, σήμερα η διάγνωση πραγματοποιείται μέσω της απόδειξης των τριών δυσλειτουργιών: σπειραματονεφρίτιδα, πνευμονική αιμορραγία και αντισώματα εναντίον της αλυσίδας α-3 του κολλαγόνου τύπου VI της GBM.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus GBM είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG εναντίον της πρωτεΐνης της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM), στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Το αντιγόνο στερεώνεται στη στερεά φάση. Οι συγκεκριμένες ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό.

Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από ανθρώπινα αντισώματα αντί-ανοσοσφαιρίνης συζευγμένης με υπεροξειδάση ραφανιδίων.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς την συγκέντρωση των συγκεκριμένων αντισωμάτων που βρίσκονται στον ορό υπό εξέταση.

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Αυθαίρετες Μονάδες (AU/ml).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε τεστ που έχουν εγκριθεί από την FDA, για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσμένο. Τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να τα χειρίζεστε όλα σύμφωνα με τους κανονισμούς ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Διάθεση καταλοίπων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσμένα κατάλοιπα και επομένως να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.

- Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
- Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ ανάλυσης μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
- Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχει το κιτ συμβουλευέστε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
- Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγωθηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
- Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να έχει στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση, τα σετ πρέπει να αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

- Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
- Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
- Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ίδιου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
- Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
- Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
- Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
- Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
- Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).

- Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
- Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυπαιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
- Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
- Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86070).

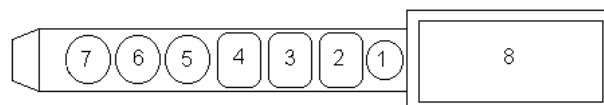
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86070/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86070).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86070/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαίσθητοποιημένη από πρωτεΐνη βασικής σπειραματικής μεμβράνης

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαίσθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H₂O₂ 0.01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0.05 mol/L (pH 3.8)

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: ρυθμιστικό πρωτεϊνικό διάλυμα που εμπεριέχει Proclin (0.1%)

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντί-IgG μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Σε αυτή την κυψελίδα ο χρήστης πρέπει να βάλει τον μη διαλυμένο ορό.

Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε την σακούλα, βγάλτε όλα σετ χρειάζονται; επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στην σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε** πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Διατηρείτε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG εναντίον της πρωτεΐνης της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM) και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG εναντίον της πρωτεΐνης της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM) και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Συσκευή Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που διατηρήθηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος μέσω του ορού ελέγχου (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συστατικό μέρος και πάνω στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

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

ΣΕΤ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος δείγματος αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις από την χρησιμοποίηση άλλων βιολογικών υγρών.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C.; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές.

Αποφεύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για τη διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από την μικροβιακή μόλυνση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Βάλτε στην κυψελίδα αρ. 1 του κάθε σετ, 50 μl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Οδηγιών της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό θετικού ελέγχου για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. Αν η συσκευή προειδοποιήσει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτού ορίου χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554

Φαξ: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Arbitrary Units (AU/ml) που υπολογίζονται βάσει ενός γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

Το τεστ στον ορό υπό εξέταση μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18.0

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12.0

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 12.0 και 18.0

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές επαναλάβετε την αιμοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδιασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 3.0-100.0 AU/ml

Για δείγματα > 100.0 AU/ml επαναλάβετε το τεστ αραίωνοντας πρώτα το δείγμα σε Negative Control/Sample Diluent (Αρνητικό Έλεγχο/Δείγμα Διαλύτη) (PF83607- δεν παρέχεται με το κιτ).

13. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 5 δείγματα (2 Αρνητικά, 1 στο Cut-Off και 2 Θετικά) στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 IU/ml)

Χολερυθρίνη (4.5-45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10-250 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5-30 mg/ml)

Η παρουσία των προαναφερθέντων παρεμβατικών ουσιών στον εξεταζόμενο ορό δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα του τεστ.

14. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 6 δείγματα, θετικά στα β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.

Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 74 δείγματα με το κιτ Diesse και με ένα άλλο κιτ του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Σύνολο	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία): 100.0% CI_{95%}: 74.1-99.7

Percent Negative Agreement (~Διαγνωστική ειδικότητα): 98.4% CI_{95%}: 91.5-99.7

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός με τιμή K (σταθερά του Cohen) 0.96.

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή AU/ml	CV%	Μέση Τιμή 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	-

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων	
	Μέση Τιμή AU/ml	CV%
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
- 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





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 α -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 α -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 α -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 α -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).

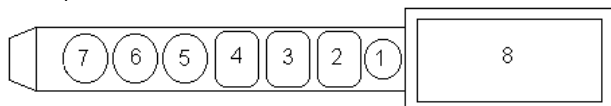
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86070/12).

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 H₂O₂ 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_{95%}: 74.1-99.7

Percent Negative Agreement: (-Diagnostic Specificity):

98.4% CI_{95%}: 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



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