

CHORUS

dsDNA-M

REF 86034

REF 86034/12



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.

Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

	Capitolo Section Capítulo Kapitola Rozdział
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual Změny provedené v této revizi Zmiany wprowadzone w bieżącej rewizji	REF – 5 – 9



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS dsDNA-M

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgM anti-dsDNA

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

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

2. INTRODUZIONE

Gli anticorpi che si legano al DNA appartengono al gruppo di anticorpi antinucleari (ANA) e sono stati osservati in numerose malattie autoimmuni. Gli anticorpi che reagiscono con il DNA nativo a doppia elica (ds) sono ritenuti specifici per il lupus eritematoso sistemico (SLE) e sono stati osservati nel 50-80% circa dei pazienti.

Gli anticorpi anti dsDNA si osservano durante le fasi attive dell' SLE. La concentrazione serica è direttamente correlata con la gravità della malattia. La determinazione di tali autoanticorpi è quindi importante nella diagnosi e nel monitoraggio clinico dell' SLE. Di conseguenza, questo parametro è stato stabilito come uno degli 11 criteri per la diagnosi dell' SLE.

La maggior parte dei pazienti con SLE presentano degli anticorpi della classe IgM verso il dsDNA. Tali autoanticorpi sono associati alla nefrite da SLE. Inoltre, circa il 30% dei pazienti con SLE sviluppa degli anticorpi anti-dsDNA della classe IgA. E' stato ipotizzato che la presenza di tali anticorpi di classe IgA possa distinguere un certo sottogruppo di pazienti con SLE. Infatti, alcuni studi dimostrano l'associazione di questo sottogruppo con certi parametri associati all'attività della malattia, quali la VES elevata od il consumo del componente C3 del complemento, come pure i parametri clinici della vasculite cutanea, necrosi acrale ed eritema, mentre nessuna associazione è stata osservata nel caso di nefrite ed artrite.

Gli anticorpi anti-dsDNA della classe IgM sono stati trovati nel 52% dei sieri da pazienti affetti da SLE. Diversamente dalle IgG ed IgA, le IgM non sono correlate all'attività della malattia. Tuttavia, una correlazione negativa altamente significativa fra le IgM anti-dsDNA e la nefrite associate al SLE, compresi i relativi parametri da laboratorio, è stato dimostrato. Quindi, gli anticorpi IgM possono indicare un sottogruppo di pazienti con SLE che sono protetti dal rischio dello sviluppo della nefrite.

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

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

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati dall'FDA 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**
- Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
- 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.
- I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
- Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
- Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
- Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
- Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
- Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
- 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.
- 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 86034).

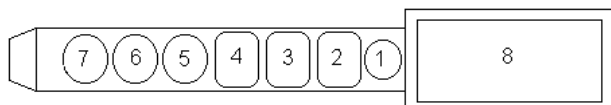
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86034/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86034).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86034/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con dsDNA altamente purificato

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%)

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.175 ml**

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

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

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-dsDNA 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 > 30.0

NEGATIVO: quando il risultato è < 20.0

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 20.0 e 30.0.

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 10.0 - 150.0 AU/ml.

Per campioni > 150.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44-220 UI/ml)

Bilirubina (4.5-45 mg/dl)

Trigliceridi (10-250 mg/dl)

Emoglobina (5-30 mg/ml)

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

14. CROSS-REATTIVI

22 campioni, positivi a ASCA, CCP, Cenp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 94 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Totale	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

92.9% CI_{95%}: 68.3.-98.6

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):
100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.96.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8

17. BIBLIOGRAFIA

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tunekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(6): 556-560.
- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. *Ann Rheum Dis JID* – 0372355 2004; 63(4): 386-394.
- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(7): 1052-1056.
- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(2): 220-224.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hilius O. Lupus: an overview of the disease and management options. *P T* 2012; 37(4): 240-9.

- Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(6): 797-808.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS dsDNA-M

For the semiquantitative determination of IgM antibodies anti-dsDNA

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

Antibodies binding to DNA belong to the group of anti-nuclear antibodies (ANA) that have been observed in several autoimmune diseases. Antibodies reacting with native double-stranded (ds) DNA are regarded as being specific for systemic lupus erythematosus (SLE) and have been observed in approximately 50-80% of the patients.

Antibodies against dsDNA are found during active phases of SLE. The amount of the serum concentration is positively correlated with the severity of the disease. Thus, detection of these autoantibodies is important for the diagnosis and the clinical monitoring of SLE. Consequently it has been established as one of the 11 ACR-criteria for the diagnosis of SLE.

Most patients with SLE display IgM class antibodies against dsDNA. These autoantibodies are associated with lupus nephritis. Approximately 30% of the SLE patients develop IgA class anti-dsDNA antibodies, additionally. There have been suggestions that the presence of these IgA class anti-dsDNA antibodies may define a certain subset of SLE patients. Indeed studies demonstrated the association of this subclass with certain parameters of the disease activity, such as elevated erythrocyte sedimentation rate, or the consumption of complement component C3, as well as the clinical parameters of cutaneous vasculitis, acral necrosis and erythema, while no association was found for nephritis and arthritis.

IgM class anti-dsDNA antibodies were found in 52% of the sera from patients with SLE. In contrast to IgG and IgA class autoantibodies, the subclass IgM antibodies do not correlate with disease activity. However, a highly significant negative correlation between IgM anti-dsDNA antibodies and lupus nephritis, including its laboratory parameters was demonstrated. Therefore IgM class anti-dsDNA antibodies may indicate a subset of lupus patients being protected against the risk of developing nephritis.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus dsDNA-M device is ready to use for the detection of IgM antibodies against dsDNA, 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 86034).

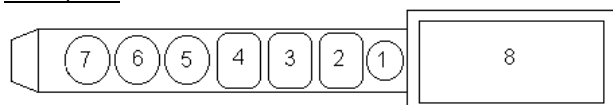
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86034/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86034).

2 packages each containing 6 devices (REF 86034/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with highly purified dsDNA

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: monoclonal antibodies anti-human IgM 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 IgM antibodies anti-dsDNA and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies anti-dsDNA 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 > 30.0

NEGATIVE: when the result is < 20.0

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 20.0 and 30.0

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 10.0 - 150.0 AU/ml.

For samples > 150.0 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

22 samples, positive to ASCA, CCP, Cenp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg were tested.

No significant cross-reactions were found.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 94 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Tot.	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

92.9% CI_{95%}: 68.3.-98.6

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

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	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7
9	13.6	4.4	12.8	10.7
10	15.1	7.9	14.7	10.1

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8
9	15.9	9.2	15.9	5.7
10	18.5	7.4	18.5	6.8

17. REFERENCES

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(6): 556-560.
- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. *Ann Rheum Dis JID* – 0372355 2004; 63(4): 386-394.
- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(7): 1052-1056.
- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(2): 220-224.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hiliass O. Lupus: an overview of the disease and management options. *P T* 2012; 37(4): 240-9.
- Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of

Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(6): 797-808.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS dsDNA-M

Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM αντί-dsDNA

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgM αντί-dsDNA στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αντισώματα που συνδέονται με το DNA ανήκουν στην ομάδα των αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA) και παρατηρήθηκαν σε πολλά αυτοάνοσα νοσήματα. Τα αντισώματα που αντιδρούν με το γηγενές DNA διπλής έλικας (ds), θεωρούνται ειδικά για τον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και ανιχνεύθηκαν στο 50-80% περίπου των ασθενών.

Τα αντισώματα αντί dsDNA παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της φάσης έξαρσης του ΣΕΛ. Η συγκέντρωση στον ορό έχει άμεση σχέση με την βαρύτητα της νόσου. Ο προσδιορισμός αυτών των αυτοαντισωμάτων αποτελεί, ως εκ τούτου, ένα πολύ σημαντικό στοιχείο για τη διάγνωση και την κλινική παρακολούθηση του ΣΕΛ. Κατά συνέπεια, αυτή η παράμετρος ορίστηκε ως ένα από τα 11 κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του ΣΕΛ.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, παρουσιάζουν τα αντισώματα IgM κατά του dsDNA. Αυτά τα αυτοαντισώματα συνδέονται με την νεφρίτιδα από ΣΕΛ. Επίσης, το 30% των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, αναπτύσσει αντισώματα αντι-dsDNA της κατηγορίας των IgA. Έχει υποτεθεί ότι η παρουσία αντισωμάτων IgA μπορεί να χαρακτηρίσει κάποια υπο-ομάδα ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ. Πράγματι, μερικές μελέτες, αποδεικνύουν τη σχέση αυτής της υπο-ομάδας με ορισμένες παραμέτρους που έχουν σχέση με την δραστηριότητα της ασθένειας, όπως η υψηλή τιμή της ESR (ταχύτητα καθίζησης ερυθρών) ή η ανάλυση του συστατικού στοιχείου C3 του συμπληρώματος, όπως και οι κλινικές παράμετροι της δερματικής αγγειίτιδας, της νέκρωσης των άκρων και του ερυθήματος, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία σχέση στην περίπτωση νεφρίτιδας και αρθρίτιδας.

Τα αντισώματα αντι-dsDNA του είδους των IgM ανιχνεύθηκαν στο 52% των ορών των ασθενών που έπασχαν από ΣΕΛ. Διαφορετικά από τα IgG και τα IgA, τα IgM δεν έχουν συσχετιστεί με τη δραστηριότητα της νόσου. Παρ' όλα αυτά

αποδείχθηκε ένας αρνητικός συσχετισμός υψηλής σημασίας, μεταξύ των IgM αντι-dsDNA και της νεφρίτιδας από ΣΕΛ, συμπεριλαμβανομένων και των σχετικών παραμέτρων εργαστηρίου. Ως εκ τούτου, τα αντισώματα IgM μπορεί να υποδεικνύουν μία υπο-ομάδα ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, οι οποίοι προστατεύονται από τον κίνδυνο να αναπτύξουν νεφρίτιδα.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus dsDNA-M είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM αντί-dsDNA, 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.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.

3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ ανάλυσης μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχει το kit συμβουλευέστε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
5. 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 εγγυηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. 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.

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. 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.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί , μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).

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

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86034).

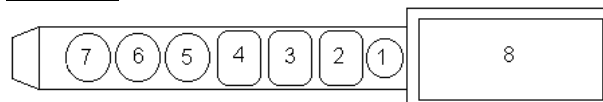
Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86034/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86034).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86034/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με dsDNA υψηλής καθαρότητας.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

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-IgM 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 όσα 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 IgM αντί-dsDNA και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgM αντί-dsDNA 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
- Συνηθισμένοι υάλινοι εξοπλισμοί 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 > 30.0

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 20.0

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 20.0 και 30.0.

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 10.0.- 150.0 AU/ml.

Για δείγματα > 150.0 AU/ml επαναλάβετε το τεστ αραιώνοντας 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 UI/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 22 δείγματα, θετικά στα ASCA, CCP, Ccnp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg.

Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 94 δείγματα με το κιτ Diesse και με ένα άλλο κιτ του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Σύνολο	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

92.9% CI_{95%}: 68.3.-98.6

Percent Negative Agreement (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

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	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7
9	13.6	4.4	12.8	10.7
10	15.1	7.9	14.7	10.1

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8
9	15.9	9.2	15.9	5.7
10	18.5	7.4	18.5	6.8

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6): 556-560.
- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID – 0372355 2004; 63(4): 386-394.
- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2): 220-224.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hiliass O. Lupus: an overview of the disease and management options. P T 2012; 37(4): 240-9.

7. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(6): 797-808.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS dsDNA-M

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgM anti-dsDNA

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgM anti-dsDNA en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos que se unen al ADN pertenecen al grupo de anticuerpos antinucleares (ANA) los cuales han sido observados en varias enfermedades autoinmunes. Los anticuerpos que reaccionan con el ADN nativo de doble cadena (ds) se ven como específicos para el lupus eritematoso sistémico (LES) y han sido observados en aproximadamente el 50-80% de los pacientes.

Los anticuerpos contra el dsDNA se observan durante las fases activas del LES. La cantidad de concentración en el suero se correlaciona positivamente con la severidad de la enfermedad. Debido a esto, es importante la detección de estos anticuerpos para el diagnóstico y la monitorización clínica del LES. En consecuencia ha sido establecido como 1 de los 11 criterios del ACR (American college of Rheumatology) para el diagnóstico del LES. La mayoría de los pacientes con LES muestran anticuerpos de la clase IgM contra el dsDNA. Estos autoanticuerpos están asociados con el lupus nefrítico. Aproximadamente el 30% de los pacientes con LES desarrollan adicionalmente anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgA. Se ha sugerido que la presencia de estos anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgA pueda definir un cierto subconjunto de pacientes con LES. De hecho, hay estudios que demuestran la asociación de esta subclase con ciertos parámetros de la actividad de la enfermedad, como un ratio de sedimentación eritrocitaria elevado o como el consumo del componente del complemento C3, así como los parámetros clínicos de vasculitis cutánea, necrosis acral y eritema. No se encontró ninguna asociación con nefritis y artritis. Los anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgM se encontraron en el 52% de los sueros de los pacientes con LES. En contraste con los autoanticuerpos de la clase IgG e IgA, los anticuerpos de la subclase IgM no correlacionan con la actividad de la enfermedad. No obstante, se demostró una correlación negativa elevadamente significativa entre los anticuerpos anti-

dsDNA IgM y el lupus nefrítico, incluyendo sus parámetros de laboratorio. Por lo tanto, los anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgM pueden indicar una subclase de pacientes de lupus que están protegidos contra el riesgo de desarrollar nefritis.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus dsDNA-M está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgM anti-dsDNA, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas conjugadas con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El resultado se expresa en Unidades Arbitrarias (AU/ml).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados por la FDA 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 materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración

final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.

6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner los dispositivos a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86034).

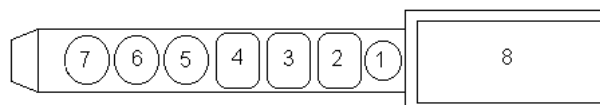
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86034/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86034).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86034/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con dsDNA altamente purificado

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H₂O₂ 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución proteica salina con Proclin (0.1%)

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgM humanos marcados con peroxidasa, en una solución tampón fosfato con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 ml

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

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 ml

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

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- 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
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente

infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del suero de control (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

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 se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces.

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso.

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según 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 realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en Unidades Arbitrarias (AU/ml), calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La prueba del suero examinado puede ser interpretada de la manera siguiente:

POSITIVO cuando el resultado es > 30.0
NEGATIVO cuando el resultado es < 20.0
DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 20.0 y 30.0.

En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescindir de otros indicadores relativos al mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 10.0 - 150.0 AU/ml.

Para muestras > 150.0 AU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/ Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

5 muestras (2 Negativas, 1 de Cut-Off y 2 Positivas) fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (44-220 UI/ml)
Bilirrubina (4.5-45 mg/dl)
Triglicéridos (10-250 mg/dl)
Hemoglobina (5-30 mg/ml)

La presencia en el suero de las sustancias interferentes antes mencionadas no afecta el resultado del test.

14. REACCIONES CRUZADAS

22 muestras, positivas en ASCA, CCP, Cenp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg fueron testadas.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 94 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Total	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico): 92.9% CI_{95%}: 68.3-98.6

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico): 100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y, con un valor de K (constante de Cohen) de 0.96.

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7
9	13.6	4.4	12.8	10.7
10	15.1	7.9	14.7	10.1

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8
9	15.9	9.2	15.9	5.7
10	18.5	7.4	18.5	6.8

17. BIBLIOGRAFÍA

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(6): 556-560.
- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. *Ann Rheum Dis JID* – 0372355 2004; 63(4): 386-394.
- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we

approaching journey's end? *Rheumatology* (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.

- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology* (Oxford) 2004; 43(2): 220-224.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hiliás O. Lupus: an overview of the disease and management options. *P T* 2012; 37(4): 240-9.
- Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res* (Hoboken) 2012; 64(6): 797-808.



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS dsDNA-M

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgM anti-dsDNA

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgM anti-dsDNA dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Les anticorps anti-DNA appartiennent au groupe des anticorps anti-nucléaires (ANA) et sont observés dans de nombreuses maladies auto-immunitaires. Les anticorps qui réagissent avec l'ADN natif à double hélice (ds) sont spécifiques du lupus érythémateux systémique (SLE) et ont été observés chez 50-80% environ des patients.

Les anticorps anti-dsDNA se rencontrent durant les phases actives du SLE. La concentration sérique est directement corrélée à la gravité de la maladie. La détermination de ces auto-anticorps est donc importante dans le diagnostic et le monitoring clinique du SLE. En conséquence, ce paramètre a été établi comme un des 11 critères pour le diagnostic du SLE.

La plus grande partie des patients atteints de SLE présentent des anticorps de la classe IgM envers le dsDNA. Ces auto-anticorps sont associés à la néphrite de SLE. De plus, environ 30% des patients avec SLE développent des anticorps anti-dsDNA de la classe IgA. On a fait l'hypothèse que la présence de ces anticorps de la classe IgA puisse distinguer un certain sous-groupe de patients atteints de SLE. En effet, certaines études démontrent l'association de ce sous-groupe avec certains paramètres associés à l'activité de la maladie, tels que la VES élevée ou la consommation du composant C3 du complément, comme aussi les paramètres cliniques de l'angéite cutanée, nécrose acrale et érythème, tandis qu'aucune association n'a été observée dans le cas de néphrite et d'arthrite.

Les anticorps anti-dsDNA de la classe IgM ont été retrouvés chez 52% des sérums de patients atteints de SLE. Diversement des IgG et IgA, les IgM ne sont pas corrélées à l'activité de la maladie. De toute façon, une corrélation négative hautement significative entre les IgM anti-dsDNA et la néphrite associée au SLE, y compris les paramètres de laboratoire relatifs, a été démontrée. Donc, les anticorps IgM peuvent indiquer un sous-

groupe de patients atteints de SLE qui sont protégés du risque de développement de la néphrite.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus dsDNA-M est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgM anti-dsDNA, 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 diagnostic 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

7. Ne pas pipeter avec la bouche.
8. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
9. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
10. 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).
11. 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.

12. 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.

13. Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.

14. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
15. 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.
16. 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.
17. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
18. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
19. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
20. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
21. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
22. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum pas totalement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
23. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
24. **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 86034).

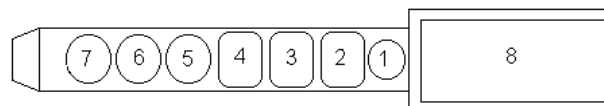
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86034/12).

DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86034).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86034/12).

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec un dsDNA hautement purifié.

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-IgM 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 IgM anti-dsDNA et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM anti-dsDNA 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 décongelations.

Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongelation, 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 > 30.0

NÉGATIF quand le résultat est < 20.0

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 20.0 et 30.0

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 10.0 - 150.0 AU/ml.

Pour les échantillons > 150.0 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

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

Facteur rhumatoïde (44-220 UI/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

22 échantillons positifs aux ASCA, CCP, Cenp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 94 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	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Total	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique):

92.9% CI_{95%}: 68.3-98.6

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

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	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7
9	13.6	4.4	12.8	10.7
10	15.1	7.9	14.7	10.1

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8
9	15.9	9.2	15.9	5.7
10	18.5	7.4	18.5	6.8

17. BIBLIOGRAPHIE

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6): 556-560.

- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID – 0372355 2004; 63(4): 386-394.
- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2): 220-224.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hiliass O. Lupus: an overview of the disease and management options. P T 2012; 37(4): 240-9.
- Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6): 797-808.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS dsDNA-M

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgM anti-dsDNA

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos de classe IgM anti- dsDNA no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

Os anticorpos que se ligam ao DNA pertencem ao grupo dos anticorpos antinucleares (ANA) e foram observados em numerosas doenças autoimunes. Os anticorpos que reagem com o DNA nativo a espiral dupla (ds) são considerados específicos para o Lupus eritematoso sistêmico (LES) e foram observados em 50 a 80% dos pacientes, aproximadamente.

Os anticorpos anti-dsDNA são observados durante as fases activas do LES. A concentração no soro está directamente relacionada com a gravidade da doença. Assim, a determinação desses auto-anticorpos é importante para o diagnóstico e para o controlo clínico do LES. Consequentemente, este parâmetro foi estabelecido como um dos 11 critérios para o diagnóstico do LES.

A maior parte dos pacientes com LES apresentam anticorpos da classe IgM contra o dsDNA. Esses auto-anticorpos são associados à nefrite do LES. Para além disso, aproximadamente 30% dos pacientes com LES desenvolve anticorpos anti-dsDNA da classe IgA. Foi formulada a hipótese que a presença desses anticorpos de classe IgA possa distinguir um certo subgrupo de pacientes com LES. De facto, alguns estudos demonstram a associação deste subgrupo com certos parâmetros associados à actividade da doença, tais como a VES elevada ou o consumo do componente C3 do complemento, como também os parâmetros clínicos da vasculite cutânea, necrose acral e eritema, enquanto que não foi observada nenhuma associação em caso de nefrite e artrite. Os anticorpos anti-dsDNA da classe IgM foram encontrados em 52% dos soros de pacientes que sofrem de LES. Ao contrário das IgG e das IgA, as IgM não estão relacionadas com a actividade da doença. Todavia, foi demonstrada uma correlação negativa altamente significativa entre as IgM anti-dsDNA e a nefrite associadas ao LES, incluindo os respectivos parâmetros de laboratório. Portanto, os anticorpos IgM podem

indicar um subgrupo de pacientes com LES os quais estão protegidos do risco de desenvolvimento da nefrite.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus dsDNA-M está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgM anti-dsDNA, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído 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 que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro analisado.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O resultado é expresso em Unidades Arbitrárias (AU/ml).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana com os quais foram testados, de acordo com os testes aprovados pela FDA e os resultados foram negativos para a presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. Visto que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia completa em relação à ausência de agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infectados. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratadas como resíduos infectados e, portanto, devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma proteção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de

sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.

- Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afetada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado. Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem em temperatura ambiente (18-30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

- Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
- Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
- Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentem corpos estranhos no poço de reação.
- Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
- Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
- Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
- Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
- Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
- Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
- Amostras fortemente hemolisadas, lipêmicas, ictericas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
- Não usar o dispositivo depois da data de validade.
- Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer Autoimmunity (REF 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86034).

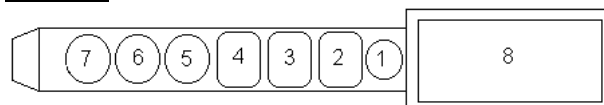
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86034/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86034).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86034/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para o rótulo com o código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com dsDNA altamente purificado

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL e H₂O₂ 0.01% estabilizados em tampão citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina com Proclin (0.1%)

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgM humanas marcadas com peroxidase, em solução tampão de fosfato, contendo fenol 0.05% e Bronidox 0.02%

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

Uso: estabilizar um pacote em temperatura ambiente, abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e fechar o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti-dsDNA e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti-dsDNA e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µL
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do soro de controlo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

A data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada depois da abertura e/ou da preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas entre 2 e 8°C
CALIBRADOR	8 semanas entre 2 e 8°C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas entre 2 e 8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

A inativação ao calor pode levar a resultados errados.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 50 µl de soro não diluído a testar; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações do Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de

aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar fora do intervalo de aceitação, contatar il Scientific Support.

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em Unidades Arbitrárias (AU/ml) calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 30.0

NEGATIVO quando o resultado for < 20.0

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 20.0 e 30.0

Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado. Se o resultado continuar incerto/equivocado, repetir a recolha.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao mesmo paciente. O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 10.0.- 150.0 AU/ml.

Para amostras > 150.0 AU/ml repetir o teste diluindo primeiramente a amostra com o Negative Control/Sample Diluent (PF83607- não fornecido com o kit).

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras (2 Negativos, 1 Cut-Off e 2 Positivos) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44-220 UI/ml)

Bilirrubina (4.5-45 mg/dl)

Triglicéridos (10-250 mg/dl)

Hemoglobina (5-30 mg/ml)

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

14. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 22 amostras, positivas em ASCA, CCP, Cnp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg.

Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 94 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Total	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

92.9% CI_{95%}: 68.3.-98.6

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Constante de Cohen) de 0.96.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaio	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7
9	13.6	4.4	12.8	10.7
10	15.1	7.9	14.7	10.1

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8
9	15.9	9.2	15.9	5.7
10	18.5	7.4	18.5	6.8

17. BIBLIOGRAFIA

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(6): 556-560.
- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. *Ann Rheum Dis JID* – 0372355 2004; 63(4): 386-394.

- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(7): 1052-1056.
- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(2): 220-224.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hilius O. Lupus: an overview of the disease and management options. *P T* 2012; 37(4): 240-9.
- Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(6): 797-808.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS dsDNA-M

Pro semikvantitativní stanovení IgM anti-dsDNA protilátek

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. POUŽITÍ

Metoda enzymové imunanalýzy pro semikvantitativní stanovení anti-dsDNA protilátek třídy IgM v lidském séru pomocí jednorázového zařízení použitého na přístrojích Chorus a Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Protilátky vázající DNA patří do skupiny antinukleárních protilátek (ANA) a byly pozorovány u mnoha autoimunitních onemocnění. Předpokládá se, že protilátky reagující s nativní dvojitou šroubovicí (ds) DNA jsou specifické pro systémový lupus erythematosus (SLE) a byly pozorovány přibližně u 50-80 % pacientů.

Protilátky proti dsDNA jsou pozorovány během aktivních fází SLE. Sérová koncentrace přímo koreluje se závažností onemocnění. Stanovení těchto autoprotilátek je proto důležité pro diagnostiku a klinické sledování SLE. Proto byl tento parametr stanoven jako jedno z 11 kritérií pro diagnózu SLE.

Většina pacientů se SLE má protilátky třídy IgM proti dsDNA. Tyto autoprotilátky jsou spojeny se SLE nefritidou. Kromě toho se přibližně u 30 % pacientů se SLE vyvinou anti-dsDNA protilátky třídy IgA. Předpokládá se, že přítomnost těchto protilátek třídy IgA může odlišit určitou podskupinu pacientů se SLE. Některé studie skutečně ukazují souvislost této podskupiny s určitými parametry spojenými s aktivitou onemocnění, jako je zvýšené ESR nebo spotřeba C3 složky komplementu, a také s klinickými parametry kožní vaskulitidy, akraální nekrózy a erytému, zatímco v případě nefritidy a artritidy nebyla pozorována žádná souvislost.

Protilátky proti dsDNA třídy IgM byly nalezeny v 52 % sér pacientů se SLE. Na rozdíl od IgG a IgA IgM nekoreloval s aktivitou onemocnění. Byla však prokázána vysoce významná negativní korelace mezi IgM anti-dsDNA a nefritidou spojenou se SLE, včetně souvisejících laboratorních parametrů. Protilátky IgM tak mohou indikovat podskupinu pacientů se SLE, kteří jsou chráněni před rizikem vzniku nefritidy.

3. PRINCIP METODY

Zařízení Chorus dsDNA-M je připraveno k použití pro stanovení IgM anti-dsDNA protilátek v přístrojích Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymově vázaná imunisorbční analýza). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny se vážou na antigen po inkubaci se zředěným lidským sérem. Po promytí k odstranění nezreagovaných proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z lidských antiimunoglobulinových protilátek konjugovaných s křenovou peroxidázou. Nenavázaný konjugát se odstraní a přidá se substrát pro peroxidázu. Barva, která se vytvoří, je úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

Jednorázová zařízení obsahují všechna činidla pro testování v přístrojích Chorus/Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v libovolných jednotkách (AU/ml).

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ *IN VITRO*.

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními v testech schválených FDA jak na HBsAg, tak na protilátky anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Vzhledem k tomu, že žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku nepřítomnosti infekčních agens, musí být jakýkoli materiál lidského původu považován za potenciálně infikovaný. Se všemi činidly a vzorky se musí zacházet v souladu s bezpečnostními pravidly obvyklými v laboratoři.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a proužky je třeba zacházet jako s infikovanými zbytky a poté je zlikvidovat v souladu s předpisy.

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

1. Nepipetujte ústy.
2. Při manipulaci se vzorky používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po vložení zařízení do přístroje Chorus/Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Bezpečnostní charakteristiky činidel obsažených v soupravě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na vyžádání).
5. Neutralizované kyseliny a jiné kapalné odpady by měly být dezinfikovány přidáním chlornanu sodného v dostatečném množství, aby bylo dosaženo konečné koncentrace alespoň 1 %. K zajištění účinné dezinfekce by mělo stačit působení 1% chlornanu sodného po dobu 30 minut.
6. Jakékoli rozlité potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci dekontaminován, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena. Veškeré materiály použité k dekontaminaci náhodně rozlitéch látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad.

Materiály s obsahem chlornanu sodného nekládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Před použitím zahřejte zařízení na pokojovou teplotu (18-30 °C) a použijte je do 60 minut.

- 1. Zařízení se substrátem (jamka 4) obarveným na modro vyhodte.**
- Při přidávání vzorku do jamky zkontrolujte, zda je dokonale rozložen na dně.
- Zkontrolujte skutečnou přítomnost činidel v zařízení a neporušenost samotného zařízení. Nepoužívejte zařízení, u nichž při vizuální kontrole chybí reagenty a/nebo se v reakční jamce nacházejí cizí tělesa.
- Zařízení je nutné používat společně s přístrojem Chorus/Chorus TRIO, přičemž je nutné striktně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku k přístroji.
- Zkontrolujte, zda je přístroj Chorus/Chorus TRIO správně nastaven (viz uživatelská příručka).
- Čárový kód na rukojeti zařízení neměňte, aby jej přístroj správně odečetl.
- Vyhňte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků.
- Vadné čárové kódy lze do přístroje zadat ručně (viz uživatelská příručka).
- Během skladování a používání nevystavujte zařízení silnému světlu či chlornanovým výparům.
- Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaného, lipemického, ikterického, neúplně koagulovaného séra nebo vzorků s mikrobiální kontaminací.
- Nepoužívejte zařízení po uplynutí doby použitelnosti.
- 12. Zkontrolujte, zda je přístroj připojen k autoklávu promývacího pufru (Ref. 86004)**

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86034).

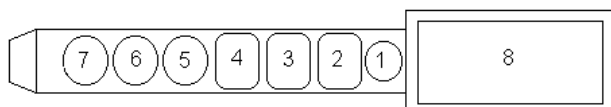
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86034/12).

DD ZAŘÍZENÍ

6 balení po 6 zařízeních v každém balení (REF 86034).

2 balení po 6 zařízeních v každém balení (REF 86034/12).

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Senzibilizované vysoce purifikovanou dsDNA

Pozice 5: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Nesenzibilizováno.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

Obsah: Tetrametylbenzidin 0,26 mg/ml a H₂O₂ 0,01 % stabilizovaný v citrátovém pufru 0,05 mol/l (pH 3,8).

Pozice 3: ŘEDIDLO PRO VZORKY

Obsah: roztok bílkovinné soli obsahující Proclin (0,1 %)

Pozice 2: KONIUGOVANÉ

Obsah: monoklonální protilátky proti lidskému IgM značené peroxidázou ve fosfátovém pufovaném roztoku obsahujícím 0,05 % fenolu a 0,02 % Bronidoxu.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kde musí uživatel dávkovat neředěné sérum.

Použití: jeden sáček vyrovnejte na pokojovou teplotu, otevřete sáček, vyjměte potřebné pomůcky; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vypusťte vzduch a uzavřete stisknutím na straně zavírání. Skladujte při teplotě 2/8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,175 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující IgM anti-dsDNA protilátky a konzervační látku. Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující IgM anti-dsDNA protilátky a konzervační látku. Tekutina připravená k použití.

DALŠÍ POŽADOVANÝ 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)
- Přístroj Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebírat objemy 50-200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádobý pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

Činidla musí být skladovány při teplotě 2/8 °C. V případě nesprávné skladovací teploty je třeba kalibraci opakovat a správnost výsledku zkontrolovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každé složce a na vnějším štítku balení.

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

ZAŘÍZENÍ	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 SKLADOVÁNÍ

Typem vzorku je sérum získané z krve odebrané ze žíly a zpracované podle standardních laboratorních postupů.

Důsledky použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze skladovat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování jej zmrazte při -20 °C.

Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát.

Vyhňte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků. Po rozmrazení vzorek před analýzou pečlivě protřepejte.

Tepelná inaktivace může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být vážně ovlivněna mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete sáček (stranu s tlakovým zavíráním), vyjměte tolik zařízení, kolik je potřeba k provedení testů, a zbytek uložte tak, že sáček po odstranění vzduchu znovu uzavřete.
2. Vizuálně zkontrolujte stav zařízení podle pokynů v kapitole 4 Analytická upozornění.
3. Do jamky č. 1 každého zařízení dávkujte 50 µl neředěného analyzovaného séra, při každé výměně dávky použijte kalibrátor.
4. Umístěte zařízení na přístroj Chorus/Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li vyžadována) a test podle návodu k použití přístroje.

9. VALIDACE TESTU

Použijte pozitivní kontrolní sérum k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje. Pokud přístroj indikuje, že kontrolní sérum má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

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

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj Chorus/Chorus TRIO poskytuje výsledek v libovolných jednotkách (AU/ml) vypočtený z grafu závislého na dávce, který je uložen v přístroji.

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 30,0

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 20,0

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 20,0 až 30,0.

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

11. OMEZENÍ TESTU

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta.

Ve skutečnosti nelze test použít pro stanovení klinické diagnózy samostatně a výsledek testu je třeba vyhodnotit společně s údaji z anamnézy pacienta a/nebo s dalšími diagnostickými vyšetřeními.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 10,0 - 150,0 AU/ml.

U vzorků > 150,0 AU/ml zopakujte test předředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (PF83607 - není součástí soupravy).

13. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Bylo testováno pět vzorků (2 negativní, 1 mezní a 2 pozitivní), ke kterým byly přidány následující interferující látky:

Revmatoidní faktor (44-220 IU/ml)

Bilirubin (4,5-45 mg/dL)

Triglyceridy (10-250 mg/dL)

Hemoglobin (5-30 mg/mL)

Přítomnost výše uvedených interferujících látek v testovaném séru nemění výsledek testu.

14. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Bylo testováno 22 vzorků pozitivních na ASCA, CCP, Ccp-B, GBM, Gliadin, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg.

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

15. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jednom experimentu bylo analyzováno 94 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy.

Níže jsou shrnuty údaje ze studie:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Celkem	14	80	94

Procento pozitivní shody (~ Diagnostická citlivost):

92,9% CI_{95%}: 68,3.-98,6

Procento negativní shody: (~Diagnostická specifita): 100,0%

CI_{95%}: 95,4-99,9

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenova konstanta) dosahující 0,96.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	V rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	CV%	Průměr (AU/ml)	CV%
1	13,6	4,4	12,8	10,7
2	15,1	7,9	14,7	10,1
3	29,6	5,6	27,9	9,4
4	39,9	5,0	38,9	11,1
5	59,6	7,0	59,6	8,7
6	59,2	4,1	58,7	10,8
7	126,4	4,7	119,8	10,4

8	134,8	3,4	133,2	9,7
---	-------	-----	-------	-----

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (AU/ml)	CV%	Průměr (AU/ml)	CV%
1	15,9	9,2	15,9	5,7
2	18,5	7,4	18,5	6,8
3	32,0	4,6	32,0	5,1
4	40,5	7,3	40,5	3,0
5	66,4	6,9	66,4	3,7
6	66,1	7,5	66,1	5,1
7	126,9	9,0	127,0	2,4
8	127,5	8,9	127,5	3,8

17. BIBLIOGRAFIE

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(6): 556-560.
2. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. *Ann Rheum Dis JID* – 0372355 2004; 63(4): 386-394.
3. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(7): 1052-1056.
4. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(2): 220-224.
5. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117(2): 316-324.
6. Maidhof W, Hiliass O. Lupus: an overview of the disease and management options. *P T* 2012; 37(4): 240-9.
7. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(6): 797-808.



INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA

CHORUS dsDNA-M

Do półilościowego oznaczania przeciwciał IgM anty-dsDNA

Tylko do użytku diagnostycznego *in vitro*

1. ZASTOSOWANIE

Metoda immunoenzymatyczna do półilościowego oznaczania przeciwciał klasy IgM anty-dsDNA w surowicy ludzkiej za pomocą urządzenia jednorazowego stosowanego w aparatach Chorus i Chorus TRIO.

2. WPROWADZENIE

Przeciwciała wiążące DNA należą do grupy przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) i były obserwowane w licznych chorobach autoimmunologicznych. Przeciwciała reagujące z natywną podwójną helisą (ds) DNA są uważane za specyficzne dla tocznia rumieniowatego układowego (SLE) i są obserwowane u około 50-80% pacjentów.

Przeciwciała anty-dsDNA są obserwowane w aktywnych fazach SLE. Stężenie w surowicy bezpośrednio koreluje z ciężkością choroby. Oznaczanie tych autoprzeciwciał jest więc ważne w diagnostyce i monitorowaniu klinicznym SLE. W związku z tym parametr ten został ustanowiony jako jedno z 11 kryteriów rozpoznania SLE.

Większość pacjentów z SLE ma przeciwciała klasy IgM przeciwko dsDNA. Takie autoprzeciwciała są związane z zapaleniem nerek w SLE. Ponadto u około 30% chorych na SLE powstają przeciwciała anty-dsDNA klasy IgA. Postawiono hipotezę, że obecność takich przeciwciał klasy IgA może wyróżniać pewną podgrupę chorych na SLE. W rzeczywistości niektóre badania wykazują związek tej podgrupy z pewnymi parametrami związanymi z aktywnością choroby, takimi jak podwyższone OB lub zużycie składnika C3 dopełniacza, a także z parametrami klinicznymi skórno-zapalenia naczyń, martwicy akralnej i rumienia, natomiast nie zaobserwowano związku w przypadku zapalenia nerek i zapalenia stawów.

Przeciwciała anty-dsDNA klasy IgM stwierdzono w 52% surowic pacjentów z SLE. W przeciwieństwie do IgG i IgA, IgM nie koreluje z aktywnością choroby. Wykazano natomiast wysoce istotną ujemną korelację między IgM anty-dsDNA a zapaleniem nerek związanym z SLE, w tym powiązanymi parametrami laboratoryjnymi. Zatem przeciwciała IgM mogą wskazywać na podgrupę pacjentów z SLE, którzy są chronieni przed ryzykiem rozwoju zapalenia nerek.

3. ZASADA METODY

Urządzenie Chorus dsDNA-M jest gotowe do użycia do oznaczania przeciwciał IgM anty-dsDNA w aparatach Chorus/Chorus TRIO.

Test oparty jest na technice ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antygen jest wiązany z fazą stałą. Podczas inkubacji z rozcieńczoną surowicą ludzką, z antygenem wiążą się swoiste immunoglobuliny. Po przemyciu w celu usunięcia nieprzereagowanych białek przeprowadza się inkubację z koniugatem składającym się ze sprzężonych z peroksydazą chrzanową ludzkich przeciwciał antyimmunoglobulinowych. Niezwiązany koniugat jest usuwany i dodawany jest substrat do peroksydazy. Powstający kolor jest proporcjonalny do stężenia specyficznych przeciwciał obecnych w badanej surowicy.

Urządzenia jednorazowe zawierają wszystkie odczynniki do badań w aparatach Chorus/Chorus TRIO.

Wyniki wyrażone są w jednostkach arbitralnych (AU/ml).

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

TYLKO DO UŻYTKU DIAGNOSTYCZNEGO *IN VITRO*.

Ten zestaw zawiera materiały pochodzenia ludzkiego, które zostały przetestowane i uznane za negatywne w zatwierdzonych przez FDA testach zarówno dla HBsAg, jak i przeciwciał anty-HIV-1, anty-HIV-2 i anty-HCV. Ponieważ żaden test diagnostyczny nie może dać całkowitej gwarancji braku czynników zakaźnych, każdy materiał pochodzenia ludzkiego należy uznać za potencjalnie zakażony. Ze wszystkimi odczynnikami i próbkami należy obchodzić się zgodnie z zasadami bezpieczeństwa przyjętymi zwykle w laboratorium.

Usuwanie pozostałości: zużyte próbki surowicy, kalibratory i paski należy traktować jak zakażone pozostałości, a następnie usunąć zgodnie z przepisami.

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami.
2. Podczas pracy z próbkami należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu.
3. Po włożeniu urządzeń do aparatu Chorus/Chorus TRIO dokładnie umyć ręce.
4. W celu zapoznania się z charakterystyką bezpieczeństwa odczynników zawartych w zestawie należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki (dostępna na życzenie).
5. Zneutralizowane kwasy i inne odpady płynne należy zdezynfekować przez dodanie podchlorynu sodu w ilości wystarczającej do uzyskania końcowego stężenia co najmniej 1%. Ekspozycja na 1% podchloryn sodu przez 30 minut powinna być wystarczająca do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy odkazić,

np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru. Wszystkie materiały użyte do odkażania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakaźne. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

Przed użyciem doprowadzić urządzenia do temperatury pokojowej (18-30°C) i użyć w ciągu 60 minut.

1. **Wyrzucić urządzenie z podłożem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko**
2. Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
3. Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w urządzeniu oraz stan samego urządzenia. Nie należy używać urządzeń, które przy kontroli wzrokowej wykazują brak jakiegokolwiek odczynnika i/lub ciał obcych w studzience reakcyjnej.
4. Urządzenia te muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus/Chorus TRIO, ściśle przestrzegając Instrukcji obsługi aparatu oraz Instrukcji dla użytkownika.
5. Sprawdzić, czy instrument Chorus/Chorus TRIO jest ustawiony prawidłowo (patrz Instrukcja obsługi).
6. Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie urządzenia, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez urządzenie.
7. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek.
8. Wadliwe kody kreskowe mogą być ręcznie wprowadzone do urządzenia (patrz Instrukcja obsługi).
9. Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać urządzeń na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.
10. Stosowanie silnie zhemolizowanej, lipemicznej, żółtaczkowej, niekompletnie zakrzepłej surowicy lub próbek skażonych mikrobiologicznie może być źródłem błędów.
11. Nie należy używać urządzenia po upływie terminu ważności
12. **Sprawdzić, czy instrument ma podłączenie do buforu do płukania Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na 36 oznaczeń (REF 86034).

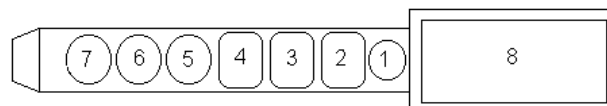
Zestaw wystarcza na 12 oznaczeń (REF 86034/12).

DD URZĄDZENIA

6 opakowań po 6 urządzeń (REF 86034).

2 opakowania po 6 urządzeń (REF 86034/12).

Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: Puste

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ

Uczulona wysoko oczyszczonym dsDNA

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ

Nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

Zawartość: Tetrametylobenzodyna 0,26 mg/ml i H₂O₂ 0,01% stabilizowane w buforze cytrynianowym 0,05 mol/l (pH 3,8)

Pozycja 3: ROZCIĘNCZALNIK DO PRÓBEK

Zawartość: roztwór soli białkowych zawierający Proclin (0,1%)

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość: znakowane peroksydazą monoklonalne przeciwciała przeciwko ludzkim IgM w roztworze buforowanym fosforanem zawierającym 0,05% fenolu i Bronidox 0,02%.

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA

Gdzie użytkownik musi dozować nierozcieńczoną surowicę.

Sposób użycia: doprowadzić kopertę do temperatury

pokojowej. otworzyć kopertę, wyjąć wymagane urządzenia; pozostałe umieścić w kopercie zawierającej żel krzemionkowy, wypuścić powietrze i **zakleić**, naciskając na zamknięcie. Przechowywać w temperaturze 2/8°C.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka zawierająca przeciwciała IgM anti-dsDNA i środek konserwujący. Płynna, gotowa do użycia.

CONTROL + KONTROLA POZYTYWNA 1 x 0.425 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka zawierająca przeciwciała IgM anti-dsDNA i środek konserwujący. Płynna, gotowa do użycia.

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- ROZTWÓR ODKAŻAJĄCY (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Aparat Chorus/Chorus TRIO
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykle szkło laboratoryjne: cylindry, probówki itp.
- Mikropipety umożliwiające dokładne pobieranie objętości 50-200 µl.
- Rękawice jednorazowe
- 5% roztwór podchlorynu sodu
- Pojemniki do zbierania potencjalnie zakażonych materiałów

6. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2/8°C. W przypadku nieprawidłowej temperatury przechowywania, należy powtórzyć kalibrację i sprawdzić poprawność wyniku za pomocą serum kontrolnego (patrz rozdział 9: Walidacja badania).

Data ważności jest wydrukowana na każdym elemencie oraz na zewnętrznej etykiecie opakowania.

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

URZĄDZENIA	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KALIBRATOR	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KONTROLA	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
POZYTYWNA	

7. RODZAJ PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

Rodzaj próbki to surowica uzyskana z krwi pobranej przez zwykłe nakłucie żyły i traktowana zgodnie z wymaganiami standardowych procedur laboratoryjnych.

Nie są znane konsekwencje stosowania innych płynów biologicznych.

Świeża surowica może być przechowywana przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższego okresu przechowywania należy zamrozić ją w temperaturze -20°C.

Próbka może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom.

Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Po rozmrożeniu, przed dozowaniem należy dokładnie wstrząsnąć próbką.

Inaktywacja termiczna może dać błędne wyniki.

Na jakość próbki może mieć poważny wpływ zanieczyszczenie mikrobiologiczne, które może prowadzić do błędnych wyników.

8. PROCEDURA

1. Otworzyć kopertę (strona zawierająca plombę dociskową), wyjąć urządzenia potrzebne do wykonania badań, a pozostałe zachować, zamykając kopertę ponownie po wypuszczeniu powietrza.
2. Wzrokowo sprawdzić stan urządzenia zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale 4 Ostrzeżenia analityczne.
3. Wprowadzić 50 µl nierozcieńczonej surowicy, która ma być analizowana, do studzienki nr 1 każdego urządzenia, przy każdej zmianie partii użyć urządzenia kalibrującego.
4. Umieścić urządzenia na aparacie Chorus/Chorus TRIO. Przeprowadzić kalibrację (jeśli jest wymagana) i test zgodnie z Instrukcją obsługi urządzenia.

9. WALIDACJA BADANIA

Wykorzystać surowicę kontroli pozytywnej do sprawdzenia poprawności otrzymanego wyniku poprzez przetwarzanie jej zgodnie z Instrukcją obsługi urządzenia. Jeśli urządzenie wskaże, że surowica kontrolna ma wartość poza dopuszczalną granicą, należy ponownie przeprowadzić kalibrację. Poprzednie wyniki zostaną skorygowane automatycznie.

Jeżeli wynik surowicy kontrolnej nadal znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy skontaktować się z Scientific Support.

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

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat Chorus/Chorus TRIO podaje wynik w jednostkach arbitralnych (AU/ml) obliczonych na podstawie wykresu zależnego od partii zapisanego w aparacie.

Badanie na surowicy można zinterpretować w następujący sposób:

POZYTYWNE: gdy wynik jest > 30,0

NEGATYWNY: gdy wynik jest < 20,0

DOUBT/EQUIVOUS: gdy wynik mieści się w przedziale od 20,0 do 30,0.

W przypadku wątpliwego/niejednoznacznego wyniku powtórzyć badanie. Jeżeli wynik pozostaje wątpliwy/jednoznaczny, powtórzyć pobieranie próbek.

11. OGRANICZENIA BADANIA

Wszystkie uzyskane wartości wymagają ostrożnej interpretacji bez pomijania innych wskaźników dotyczących tego samego pacjenta.

Badanie nie może być stosowane samodzielnie do diagnozy klinicznej, a wynik badania musi być oceniany łącznie z danymi z wywiadu z pacjentem i/lub innymi badaniami diagnostycznymi.

12. ZAKRES KALIBRACJI

Zakres kalibracji 10,0 - 150,0 AU/ml.

Dla próbek > 150,0 AU/ml powtórzyć test rozcieńczając wstępnie próbkę w Kontroli Negatywnej/Rozcieńczalniku do próbek (PF83607- nie dołączony do zestawu).

13. SPECYFICZNOŚĆ ANALITYCZNA

Przebadano 5 próbek (2 negatywne, 1 odcięta i 2 pozytywne), do których dodano następujące interferenty:

Czynnik reumatoidalny (44-220 IU/ml)

Bilirubina (4,5-45 mg/dl)

Trójglicerydy (10-250 mg/dl)

Hemoglobina (5-30 mg/ml)

Obecność powyższych substancji zakłócających w badanej surowicy nie zmienia wyniku badania.

14. REAKCJA KRZYŻOWA

Przebadano 22 próbki, pozytywne dla ASCA, CCP, Cemp-B, GBM, Gliadyny, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tIg.

Nie wykryto żadnych istotnych reakcji krzyżowych.

15. BADANIA PORÓWNAWCZE

W jednej próbie przeanalizowano 94 próbki za pomocą zestawu Diesse i innego zestawu z handlu.

Poniżej przedstawiono zarys danych eksperymentalnych:

		Oдноśnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	13	0	13
	-	1	80	81
	Razem	14	80	94

Percent Positive Agreement (~Czułość diagnostyczna):

92.9% CI_{95%}: 68.3.-98.6

Procentowa zgodność negatywna: (~specyficzność

diagnostyczna): 100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Stopień zgodności pomiędzy obiema metodami jest doskonały z wartością K (Cohen's Constant) wynoszącą 0,96.

16. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

Próbka	W ramach sesji		Między sesjami	
	Średnia (AU/ml)	CV%	Średnia (AU/ml)	CV%
1	13.6	4.4	12.8	10.7
2	15.1	7.9	14.7	10.1
3	29.6	5.6	27.9	9.4
4	39.9	5.0	38.9	11.1
5	59.6	7.0	59.6	8.7
6	59.2	4.1	58.7	10.8
7	126.4	4.7	119.8	10.4
8	134.8	3.4	133.2	9.7

Próbka	Między partiami		Między przyrządami	
	Średnia (AU/ml)	CV%	Średnia (AU/ml)	CV%
1	15.9	9.2	15.9	5.7
2	18.5	7.4	18.5	6.8
3	32.0	4.6	32.0	5.1
4	40.5	7.3	40.5	3.0
5	66.4	6.9	66.4	3.7
6	66.1	7.5	66.1	5.1
7	126.9	9.0	127.0	2.4
8	127.5	8.9	127.5	3.8

17. BIBLIOGRAFIA

- Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tunekar MF, Abbs I et al. Anty-dsDNA, przeciwciała anty-Sm i antykoagulant tocznia: istotne czynniki związane z toczniowym zapaleniem nerek. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(6): 556-560.
- Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Przeciwciała anty-dsDNA i klasyfikacja choroby u pacjentów z dodatnimi przeciwciałami przeciwjądrowymi: rola różnorodności analitycznej. *Ann Rheum Dis JID* - 0372355 2004; 63(4): 386-394.
- Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Pięćdziesiąt lat przeciwciał anty-ds DNA: czy zbliżamy się do końca podróży? *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(7): 1052-1056.
- Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Przeciwciała przeciwko nukleosomom u pacjentów z toczniem

rumieniowatym układowym o niedawnym początku. Potencjalna przydatność jako narzędzie diagnostyczne i marker aktywności choroby. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(2): 220-224.

- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Wytyczne dotyczące laboratoryjnego wykorzystania testów autoprzeciwciał w diagnostyce i monitorowaniu autoimmunologicznych chorób reumatycznych. *Am J Clin Pathol* 2002; 117(2): 316-324.
- Maidhof W, Hiliass O. Lupus: przegląd choroby i możliwości postępowania. *P T* 2012; 37(4): 240-9.
- Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012; 64(6): 797-808.

	EN ES IT PL	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione Data produkcji	FR EL PT CS	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Datum výroby
	EN ES IT PL	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro Data minimalnej trwałości	FR EL PT CS	Utiliser jusqu'à Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Použití do
	EN ES IT PL	Do not reuse No reutilizar Non riutilizzare Nie używać ponownie	FR EL PT CS	Ne pas réutiliser Μην κάνετε επαναληπτική χρήση Não reutilizar Nepoužívejte opakovaně
	EN ES IT PL	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Uwaga, patrz instrukcja obsługi	FR EL PT CS	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Pozor, nahlédněte do průvodních dokumentů
	EN ES IT PL	Manufacturer Fabricante Fabbicante Producent	FR EL PT CS	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Výrobce
	EN ES IT PL	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek	FR EL PT CS	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	EN ES IT PL	Temperature limitation Límite de temperatura Limiti di temperatura Wartości graniczne temperatury	FR EL PT CS	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Teplotní omezení
	EN ES IT PL	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Patz instrukcja obsługi	FR EL PT CS	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Přečtěte si návod k použití
	EN ES IT PL	Biological risks Riesgo biológico Rischio biologico Zagrożenie biologiczne	FR EL PT CS	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico Biologická rizika
	EN ES IT PL	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo Numer katalogowy	FR EL PT CS	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Katalogové číslo
	EN ES IT PL	In Vitro Diagnostic Medical Device Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro	FR EL PT CS	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	EN ES IT PL	Batch code Código de lote Codice del lotto Kod partii	FR EL PT CS	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Kód šarže
	EN ES IT PL	CE marking of conformity Marcado CE de conformidad Marcatura CE di conformità Oznakowanie zgodności CE	FR EL PT CS	Marquage de conformité CE Σημανση συμμορφωσης CE Marcação CE de conformidade Označení shody CE