

CHORUS



DIESSE

ANA-8

REF 86010

REF 86010/12

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





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS ANA-8

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. DESTINAZIONE D'USO

il prodotto CHORUS ANA-8 è un kit immunologico per la determinazione qualitativa automatizzata degli anticorpi di classe IgG (anticorpi anti nucleo, ANA) diretti verso 8 diversi antigeni cellulari e nucleari (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 e CenpB).

Poiché gli anticorpi ANA sono ampiamente usati come marker sierologico di malattia reumatica sistemica autoimmune, il kit viene utilizzato come un aiuto alla relativa diagnosi.

Il test, eseguito nel siero umano utilizzando un dispositivo monouso applicato agli strumenti CHORUS e CHORUS TRIO, deve essere utilizzato esclusivamente da personale professionale di laboratorio.

2. INTRODUZIONE

Per la diagnosi differenziale di malattie reumatiche sistemiche gioca un ruolo decisivo la determinazione sierologica di anticorpi anti-nucleo (ANA). Originariamente la determinazione degli ANA veniva effettuata mediante un test indiretto per immunofluorescenza (IFT) su cellule eucariotiche, ad esempio le cellule HeLa. La fluorescenza consente di distinguere singoli anticorpi, tuttavia la determinazione degli autoanticorpi nel test ELISA con corrispondenti antigeni specifici permette una più facile ed affidabile differenziazione degli ANA secondo la relativa specificità. Si riscontrano anticorpi ANA in pazienti con Lupus eritematoso sistemico (LES) attivo e inattivo, connettiviti miste (MCTD), sclerodermia, polimiosite ed altre patologie.

Gli anticorpi anti-:

- Sm (antigene Smith) sono diretti contro le proteine nucleari (B,B', D1-D3, E, F, G) di piccole ribonucleoproteine nucleari (snRNPs). Come gli anticorpi anti-DNA a doppia elica (dsDNA), gli anti-Sm sono altamente specifici per il LES, pertanto rappresenta uno dei criteri per la diagnosi del LES.
- U1snRNP si legano alla proteina di 70 kDa di U1 snRNP. Sono caratteristici di connettiviti miste e, con alti titoli, della Sindrome di Sharp.
- Complesso snRNP/Sm sono diretti contro le proteine Sm e snRNP (70 kDa, A e C). Si riscontrano nel LES, nella Sindrome di Sjogren, sclerodermia e polimiosite.
- SS-A (Ro) e gli anticorpi anti-SS-B (La) vengono individuati prevalentemente in alti titoli nella Sindrome di Sjogren

primaria e secondaria, ma si trovano anche nel LES, blocco cardiaco congenito e Lupus neonatale.

- CenpB (Proteina centromerica B di 80 kDa) sono caratteristici della Sindrome di CREST (69% di pazienti Crest), che rappresenta una forma a decorso meno grave della sclerodermia sistemica.
- Scl-70 sono diretti contro le DNA-topoisomerasi I. Sono altamente specifici per la sclerodermia sistemica e indicano un grave decorso patologico.
- Jo-1 sono diretti contro l'istidil-tRNA sintetasi (una proteina citoplasmatica della biosintesi proteica). Vengono riscontrati nel 20-40% dei pazienti affetti da polimiosite e dermatomiosite.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS ANA-8 è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG diretti verso 8 diversi antigeni cellulari e nucleari, negli strumenti CHORUS/CHORUS TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Gli antigeni vengono legati 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 Index (OD campione/OD cut-off) calcolati in riferimento a CDC Atlanta.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test 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 sul sito DIESSE: www.diesse.it)
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) per almeno 30 minuti, ed impiegare entro 60 minuti.

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

11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86010).

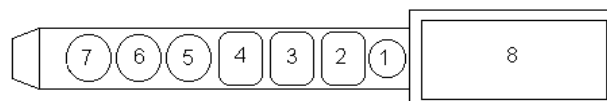
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86010/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86010).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86010/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con una miscela di antigeni ricombinanti e/o altamente purificati

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 18-13 anti-IgG umane 0.6 µg/ml-0.075 µg/ml 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 IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 e CenpB e conservante (Proclin = 0.1%, Tween-20= 0.2%, Metilarancio=7,5 µg/ml). Liquido, pronto all'uso.

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

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 e CenpB e conservante (Proclin = 0.1%, Tween-20= 0.2%, Metilarancio=7,5 µg/ml). Liquido, pronto all'uso.

L'affidabilità delle misurazioni del Calibratore e del Controllo positivo è garantita dalla catena di tracciabilità descritta di seguito.

Il Calibratore ed il Controllo positivo sono prodotti a partire da un campione umano a concentrazione nota di antigeni diluiti per raggiungere una specifica concentrazione, il cui range è lotto-dipendente e viene assegnato durante la fase di rilascio del controllo qualità utilizzando una serie di calibratori secondari ("Working calibrator").

I "Working calibrator" vengono preparati e caratterizzati in accordo con un panel di sieri umani di riferimento, con differenti livelli di antigeni.

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	8 settimane a 2/8°C
POSITIVO	

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Secondo la linea guida CLSI H18-A3 i campioni di siero da analizzare devono essere coagulati prima della centrifugazione; la coagulazione spontanea e completa avviene normalmente entro 30-60 minuti a 22°C-25°C. Si raccomanda di separare fisicamente il siero, mediante centrifugazione, dal contatto con le

cellule il più presto possibile con un limite di tempo massimo di 2 ore dal momento della raccolta.

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 temperatura ≤ -20°C per almeno 38 mesi.

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 Customer care.

Tel: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento CHORUS/CHORUS TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

Il test sul siero in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è > 1.2

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.8

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2

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. 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 IU/ml)

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

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

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

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

13. CROSS-REATTIVI

24 campioni, positivi a PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, Cardiolipina, Gliadina, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, Intrinsic Factor, tTgG, tTgA e ASCA sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 56 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Totale	20	36	56

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

85.0% CI_{95%}: 63.9- 94.5

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 90.3- 99.9

Positive Predictive Value (PPV) =100% CI_{95%}: 100.0

Negative Predictive Value (NPV) =92,3% CI_{95%}:85,3-100,0

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.89.

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	25.0*	0.1	-
2	0.4	12.5	0.4	12.5

3	0.5	6.0	0.5	10.0
4	0.8	6.3	0.9	5.6
5	1.1	8.2	1.1	4.5
6	1.3	4.6	1.3	6.2
7	1.5	4.7	1.6	5.6
8	1.8	4.4	1.9	3.7

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	30.0*	0.2	30.0*
2	0.4	-	0.4	-
3	0.6	10.0	0.6	10.0
4	0.8	-	0.8	-
5	1.1	-	1.1	5.5
6	1.3	-	1.3	7.7
7	1.6	-	1.6	6.3
8	1.9	-	1.9	6.3

*Artefatto dovuto al noto effetto di Variazione del Coefficiente che diventa estremamente sensibile a variazioni (anche molto piccole) quando il valore di media è vicino a zero.

16. BIBLIOGRAFIA

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
2. Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
3. Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
4. Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
5. Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
7. O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
8. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. SEGNALE DI INCIDENTE

Se si è verificato un incidente grave in relazione a questo dispositivo nel territorio di mercato dell'Unione Europea, si prega di segnalarlo senza indugio al produttore e all'autorità competente del proprio Stato membro.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS ANA-8

For In Vitro Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

CHORUS ANA-8 is an immunoassay kit for automated qualitative detection of IgG class antibodies against 8 cellular and nuclear antigens (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 and CenpB).

As ANA antibodies are widely used as a serologic marker of systemic autoimmune rheumatic disease, the kit is used as an aid to related diagnosis.

The test, performed in human serum using a disposable device applied to the CHORUS and CHORUS TRIO instruments, must be used by professional laboratory users only

2. INTRODUCTION

Anti-nuclear antibodies (ANA) are an important tool for the differential diagnosis of systemic rheumatic diseases. Indirect immunofluorescence test (IFT) on eukaryotic cells like HeLa has been the established method for the detection of ANAs. Single antibody specificities are distinguished by fluorescence patterns but more specific testing by ELISAs employing the target antigens are available too for a simple and reliable differentiation of ANAs.

ANAs are especially found in active and inactive systemic lupus erythematosus (SLE), mixed connective tissue diseases (MCTD), scleroderma, Sjögren's syndrome, polymyositis.

Antibodies against:

- Sm (Smith antigen) are directed against core proteins (B,B', D1-D3, E,F,G) of small nuclear ribonucleoproteins (snRNPs). Anti-Sm as well as antibodies against double stranded DNA (dsDNA) are highly specific for SLE and thus are included in diagnostic and classification criteria for SLE.
- U1 snRNP is directed to the 70 kDa protein of U1 snRNP. They are pathognomic for MCTD but do also occur in SLE. A high titer of antibodies against this antigen is typical for the Sharp-Syndrome.
- snRNP/Sm are directed against Sm and U1-snRNP proteins (70 kDa, A and C). They occur in SLE, Sjogren's syndrome, scleroderma and polymyositis.
- SS-A (Ro; soluble cytoplasmic and/or nuclear ribonucleoproteins of 52 kDa and 60 kDa) and antibodies against SS-B (La; 48 kDa protein associated with RNA polymerase III) are mainly found in high titers for primary and secondary Sjogren's

syndrome but also in SLE, congenital heartblock and neonatal lupus.

- Scl-70 are directed against DNA-topoisomerase I. They are highly specific for systemic scleroderma and give a hint for a severe course.
- CenpB (80 kDa centromere protein B) are typical for the CREST-Syndrome (69% of CREST.patients) which is a more protracted type of systemic sclerosis.
- Jo-1 are directed against histidyl-tRNA synthetase (cytoplasmic protein involved in protein biosynthesis) and are found in 20-40% of patients with polymyositis and dermatomyositis.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS ANA-8 device is ready to use for the detection of IgG antibodies against 8 cellular and nuclear antigens, in the CHORUS/CHORUS TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay). The antigens are 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 Index (OD sample/OD cut-off) calculated in reference to the CDC Atlanta.

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 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 DIESSE website: www.diesse.it) 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) for at least 30 minutes before use.

Use the device 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.
Use of the kit is only possible with an updated version of the software. Make sure that the software installed in the instrument matches or has a Release (date) above the one shown in the table published on the Diesse website
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
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. Do not use hemolyzed, lipemic, jaundiced samples with a higher concentration of interferents than tested (according to the guidance in the chapter "Analytical Specificity").
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 86010).

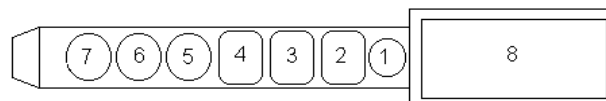
The kit is sufficient for 12 tests. (REF 86010/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86010).

2 packages each containing 6 devices (REF 86010/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with recombinant and/or highly purified antigens

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: saline proteic solution with Proclin (0.1%)

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgG monoclonal 18-13 antibodies (0.6 µg/ml-0.075 µg/ml concentrated) labeled with horse radish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol =0.05% and Bronidox 0,02 %

Position 1: EMPTY WELL

in which undiluted serum must be added

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 and CenpB and preservative (Proclin = 0.1% Tween-20= 0.2% , methylorange=7,5 µg/ml). Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 and CenpB and preservative (Proclin = 0.1%, Tween-20= 0.2%, methylorange=7,5 µg/ml).. Liquid, ready for use.

Confidence in measurements of Calibrator and Positive control is established with traceability to measurement standards as follows.

Calibrator and Positive control are produced diluting a known concentration of human antigens in its own stabilizing medium. The relative exact concentration is lot-dependent and is

assigned during the releasing Quality control phase using a series of Working Calibrators.
The Working Calibrators are prepared and characterized, checking the consensus with a reference sera panel with different antigens levels.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMUNITY 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 from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. According to the guideline CLSI H18-A3 Serum specimens to be tested should be clotted before centrifugation; spontaneous and complete clotting normally occurs within 30 to 60 minutes at 22°C-25°C.

It is recommended that serum be physically separated, by centrifugation, from contact with cells as soon as possible with a maximum time limit of 2 hours from the time of collection. 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 temperature $\leq -20^{\circ}\text{C}$, (for at least 38 months) 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 Customer care.

Tel: 0039 0577 319554
email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The CHORUS/CHORUS TRIO instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

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

POSITIVE: when the result is > 1.2

NEGATIVE: when the result is < 0.8

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.8 and 1.2

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. 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 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycerides (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hemoglobin (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

13. CROSS-REACTIONS

24 samples, positive to PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, Cardiolipin, Gliadin, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, Intrinsic Factor, tTgG, tTgA and ASCA were tested.

No significant cross-reactions were found.

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 56 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Tot.	20	36	56

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

85.0% CI_{95%}: 63.9- 94.5

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 90.3- 99.9

Positive Predictive Value (PPV) =100% CI_{95%}: 100.0-

Negative Predictive Value (NPV) =92,3% CI_{95%}:85,3-100,0

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.89.

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	0.2	25.0*	0.1	-
2	0.4	12.5	0.4	12.5
3	0.5	6.0	0.5	10.0
4	0.8	6.3	0.9	5.6
5	1.1	8.2	1.1	4.5
6	1.3	4.6	1.3	6.2
7	1.5	4.7	1.6	5.6
8	1.8	4.4	1.9	3.7

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	0.2	30.0*	0.2	30.0*
2	0.4	-	0.4	-
3	0.6	10.0	0.6	10.0
4	0.8	-	0.8	-
5	1.1	-	1.1	5.5
6	1.3	-	1.3	7.7
7	1.6	-	1.6	6.3
8	1.9	-	1.9	6.3

* Artifact caused by the known fault of Variation Coefficient which becomes extremely sensitive to even very small changes in the mean when the mean value is near zero

16. REFERENCES

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
2. Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
3. Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
4. Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
5. Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
7. O'Sullivan M, McLean-Tookey A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
8. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akeson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. INCIDENT REPORTING

If any serious incident in relation to this device has occurred in the European Union market territory, please report without delay to the manufacturer and competent authority of your Member State.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS ANA-8

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. URČENÉ POUŽITÍ

produkt CHORUS ANA-8 je imunologická souprava pro automatizované kvalitativní stanovení protilátek třídy IgG (antijaderných protilátek, ANA) namířených proti 8 různým buněčným a jaderným antigenům (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 a CenpB).

Vzhledem k tomu, že protilátky ANA jsou široce používány jako sérologický marker systémového autoimunitního revmatického onemocnění, používá se souprava jako pomůcka pro jeho diagnostiku.

Test, který se provádí v lidském séru pomocí jednorázového zařízení připojeného k přístrojům CHORUS a CHORUS TRIO, by měl být používán pouze odborným laboratorním personálem.

2. ÚVOD

Pro diferenciální diagnostiku systémových revmatických onemocnění hraje rozhodující roli sérologické stanovení anti-jaderných protilátek (ANA). Původně se stanovení ANA provádělo pomocí nepřímého imunofluorescenčního testu (IFT) na eukaryotických buňkách, např. na buňkách HeLa. Fluorescence umožňuje rozlišit jednotlivé protilátky, ale stanovení autoprotilátek v testu ELISA s odpovídajícími specifickými antigeny umožňuje snadnější a spolehlivější rozlišení ANA podle jejich specifity. Protilátky ANA se vyskytují u pacientů s aktivním i neaktivním systémovým lupus erythematosus (SLE), smíšenou konektivitou (MCTD), sklerodermií, polymyozitidou a dalšími chorobami.

Protilátky proti:

- Sm (Smithův antigen) jsou namířeny proti jaderným proteinům (B, B', D1-D3, E, F, G) malých jaderných ribonukleoproteinů (snRNP). Stejně jako protilátky anti-DNA s dvojitou šroubovicí (dsDNA) jsou anti-Sm vysoce specifické pro SLE, a proto jsou jedním z kritérií pro diagnózu SLE.
- U1snRNP se váže na 70 kDa protein U1 snRNP. Jsou charakteristické pro smíšenou konektivitu a při vysokých titrech pro Sharpův syndrom.
- Komplex snRNP/Sm jsou namířeny proti Sm a snRNP proteinům (70 kDa, A a C). Vyskytují se u SLE, Sjögrenova syndromu, sklerodermie a polymyozitidy.
- SS-A (Ro) a protilátky anti-SS-B (La) jsou detekovány ve vysokých titrech především u primárního a sekundárního

Sjögrenova syndromu, ale vyskytují se také u SLE, vrozené srdeční blokády a novorozeneckého lupusu.

- CenpB (80 kDa centromerický protein B) jsou charakteristické pro CREST syndrom (69 % pacientů s Crestem), což je méně závažná forma systémové sklerodermie.
- Scl-70 jsou namířeny proti DNA-topoizoméráze I. Jsou vysoce specifické pro systémovou sklerodermii a indikují závažný patologický průběh.
- Jo-1 jsou namířeny proti histidyl-tRNA syntetáze (cytoplazmatický protein biosyntézy). Vyskytují se u 20-40 % pacientů s polymyozitidou a dermatomyozitidou.

3. PRINCIP METODY

Zařízení CHORUS ANA-8 je připraveno k použití pro stanovení protilátek IgG namířených proti 8 různým buněčným a jaderným antigenům v přístrojích CHORUS/CHORUS TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymově vázaná imunisorbční analýza). Antigeny jsou vázány 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 anti-imunoglobulinových protilátek konjugovaných s křenuvou 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 indexu (OD vzorku/mezní hodnota OD) vypočteném podle CDC Atlanta.

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ *IN VITRO*.

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními v testech na HBsAg a 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. Veškeré bezpečnostní informace o činidlech obsažených v soupravě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na webových stránkách společnosti DIESSE: www.diesse.it).

- 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.
- Jakékoli rozlití 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 rozlitých látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad. Materiály s obsahem chlornanu sodného nevkládějte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Zařízení, která se mají použít, uveďte před použitím na pokojovou teplotu (18-30 °C) po dobu nejméně 30 minut a použijte je do 60 minut.

- 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 reagentie 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.
Použití soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný v přístroji odpovídá nebo má vyšší verzi (Rel.), než je uvedeno v tabulce na webových stránkách společnosti Diesse.
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
- 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.
- Nepoužívejte hemolyzované, lipemické vzorky se žloutenkou s vyšší koncentrací interferujících látek, než je testováno (podle pokynů v kapitole „Analytická specifická“).
- Nepoužívejte zařízení po uplynutí doby použitelnosti
- Zkontrolujte, zda je přístroj připojen k promývacímu pufru (Ref 86004)**

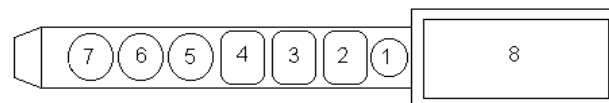
5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86010).
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86010/12).

DD ZAŘÍZENÍ

6 balení po 6 zařízeních v každém balení (REF 86010).
2 balení po 6 zařízeních v každém balení (REF 86010/12).

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Senzibilizované směsi rekombinantních a/nebo vysoce purifikovaných antigenů

Pozice 5: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Nesenzibilizováno.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

Obsah: Tetrametylbenzidín 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: KONJUGOVANÉ

Obsah:

Obsah: monoklonální protilátky 18-13 proti lidskému IgG 0,6 µg/ml-0,075 µg/ml 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 protilátky IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 a CenpB a konzervační látku (Proclin = 0,1 %, Tween-20 = 0,2 %, Methyl orange = 7,5 µg/ml). Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 a CenpB a konzervační látku (Proclin = 0,1 %, Tween-20 = 0,2 %, Methyl orange = 7,5 µg/ml). Tekutina připravená k použití.

Spolehlivost měření kalibrátoru a pozitivní kontroly je zaručena řetězcem sledovatelnosti popsáním níže.

Kalibrátor a pozitivní kontrola jsou vyrobeny z lidského vzorku o známé koncentraci protilátek, zředěného tak, aby bylo dosaženo specifické koncentrace, jejíž rozsah závisí na šarži a je přiřazen

během fáze uvolňování kontroly kvality pomocí řady sekundárních kalibrátorů („pracovní kalibrátor“). Pracovní kalibrátory jsou připraveny a charakterizovány podle panelu lidských referenčních sér s různými hladinami antigenu.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITAČNÍ ROZTOK [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVNÍ KONTROLA/ŘEDIDLO PRO VZORKY [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
- Nádoby 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 vtištěno 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.

Podle pokynu CLSI H18-A3 musí být vzorky séra určené k analýze před centrifugací sráženy; spontánní a úplná koagulace obvykle probíhá během 30-60 minut při 22 °C-25 °C. Doporučuje se, aby sérum bylo co nejdříve fyzicky odděleno centrifugací od kontaktu s buňkami s maximálním časovým limitem 2 hodiny od odběru.

Důsledky použití jiných biologických tekutin nejsou známy. Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování je třeba jej zmrazit při teplotě ≤ -20 °C po dobu nejméně 38 měsíců.

Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát.

Vyhnete 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. Vizualně 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 Péče o zákazníky

Tel.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj CHORUS/CHORUS TRIO poskytuje výsledek v indexu (vzorek OD/mezní hodnota OD).

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1,2

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0,8

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 0,8 až 1,2

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. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Bylo testováno 5 vzorků (2 negativní, 1 mezní a 2 pozitivní), ke kterým byly přidány následující interferenční látky:

Revmatoidní faktor (44-220 IU/ml)
 Bilirubin (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
 Triglyceridy (10 mg/dl - 250 mg/dl)
 Hemoglobin (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

13. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Bylo vyšetřeno 24 vzorků pozitivních na PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, kardiolipin, gliadin, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, vnitřní faktor, tTgG, tTgA a ASCA.

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

14. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jednom experimentu bylo analyzováno 56 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy.

Níže jsou shrnuty údaje ze studie:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Celkem	20	36	56

Procento pozitivní shody (~ Diagnostická citlivost):

85,0% CI_{95%}: 63,9- 94,5

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

CI_{95%}: 90,3- 99,9

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

Negativní prediktivní hodnota (NPV) =92,3% CI_{95%}:85,3-100,0

Míra shody mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenova konstanta) dosahující 0,89.

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	V rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (index)	CV%	Střední Index	CV%
1	0,2	25,0	0,1	-
2	0,4	12,5	0,4	12,5
3	0,5	6,0	0,5	10,0
4	0,8	6,3	0,9	5,6
5	1,1	8,2	1,1	4,5
6	1,3	4,6	1,3	6,2
7	1,5	4,7	1,6	5,6
8	1,8	4,4	1,9	3,7

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (index)	CV%	Střední Index	CV%
1	0,2	30,0*	0,2	30,0*
2	0,4	-	0,4	-
3	0,6	10,0	0,6	10,0
4	0,8	-	0,8	-
5	1,1	-	1,1	5,5
6	1,3	-	1,3	7,7
7	1,6	-	1,6	6,3
8	1,9	-	1,9	6,3

*Artifakt způsobený známým efektem variačního koeficientu, který se stává extrémně citlivým na odchylky (i velmi malé), pokud se střední hodnota blíží nule.

16. BIBLIOGRAFIE

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
- Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
- Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
- Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
- Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
- O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
- Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍ UDÁLOSTI

Pokud došlo k vážné nehodě s tímto přístrojem na území Evropské unie, neprodleně ji nahláste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.



MODE D'EMPLOI

CHORUS ANA-8

Pour le diagnostic *in vitro* uniquement

1. UTILISATION PRÉVUE

Le produit CHORUS ANA-8 est un kit immunologique pour la détermination qualitative automatisée des anticorps de classe IgG (anticorps antinucléaires, ANA) dirigés vers 8 antigènes cellulaires et nucléaires différents (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 et CenpB). Les anticorps ANA étant largement utilisés comme marqueurs sérologiques des maladies rhumatismales auto-immunes systémiques, le kit est utilisé comme aide au diagnostic.

Le test, réalisé sur du sérum humain à l'aide d'un dispositif jetable fixé aux instruments CHORUS ET CHORUS TRIO, ne doit être utilisé que par du personnel de laboratoire professionnel.

2. INTRODUCTION

Pour le diagnostic différentiel des maladies rhumatismales systémiques, la détermination sérologique des anticorps antinucléaires (ANA) joue un rôle décisif. À l'origine, la détermination des ANA était effectuée au moyen d'un test d'immunofluorescence indirecte (IFT) sur des cellules eucaryotes, par exemple des cellules HeLa. La fluorescence permet de distinguer les anticorps individuels, mais la détermination des auto-anticorps dans le test ELISA avec des antigènes spécifiques correspondants permet une différenciation plus facile et plus fiable des ANA en fonction de leur spécificité. Les anticorps ANA sont trouvés chez les patients atteints de Lupus érythémateux disséminé (LED) actif et inactif, de maladies du tissu conjonctif mixtes (MCTD), de sclérodermie, de polymyosite et d'autres pathologies.

Les anticorps anti- :

- Sm (Smith antigen) sont dirigés contre les protéines nucléaires (B, B', D1-D3, E, F, G) des petites ribonucléoprotéines nucléaires (snRNP). Comme les anticorps anti-ADN double brin (ADNdb), les anti-Sm sont hautement spécifiques du LED, ce qui en fait l'un des critères de diagnostic du LED.
- U1snRNP se lie à la protéine de 70 kDa de U1 snRNP. Ils sont caractéristiques de la connectivite mixte et, avec des titres élevés, du syndrome de Sharp.
- Les complexes snRNP/Sm sont dirigés contre les protéines Sm et snRNP (70 kDa, A et C). On les trouve dans le LED, le syndrome de Sjögren, la sclérodermie et la polymyosite.

- Les anticorps SS-A (Ro) et anti-SS-B (La) sont principalement détectés à des titres élevés dans le syndrome de Sjögren primaire et secondaire, mais on les trouve également dans le LED, le bloc cardiaque congénital et le lupus néonatal.
- CenpB (Protéine centromérique B de 80 kDa) sont caractéristiques du Syndrome de CREST (69 % des patients Crest), qui est une forme moins sévère de sclérodermie systémique.
- Les Scl-70 sont dirigés contre l'ADN-topoisomérase I. Ils sont hautement spécifiques de la sclérodermie systémique et indiquent une évolution pathologique sévère.
- Jo-1 sont dirigés contre l'histidyl-ARNt synthétase (une protéine cytoplasmique de la biosynthèse des protéines). Ils sont présents chez 20 à 40 % des patients atteints de polymyosite et de dermatomyosite.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS ANA-8 est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps IgG dirigés vers 8 antigènes cellulaires et nucléaires différents dans les instruments CHORUS/CHORUS TRIO.

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Les antigènes sont liés à la phase solide. Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène après incubation avec du sérum humain dilué. Après lavage pour éliminer les protéines n'ayant pas réagi, une incubation est réalisée avec le conjugué constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines conjugués à la peroxydase 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 l'échantillon de test.

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test lorsqu'ils sont appliqués aux instruments CHORUS/CHORUS TRIO.

Les résultats sont exprimés en indice (OD échantillon/OD cut-off) calculés en référence au CDC Atlanta.

4. PRÉCAUTIONS

POUR LE DIAGNOSTIC *IN VITRO* UNIQUEMENT.

Ce kit contient des matériaux d'origine humaine qui ont été testés et se sont révélés négatifs pour le HBsAg et les anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-HCV. Aucun test de diagnostic ne pouvant garantir l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être manipulés conformément aux règles de sécurité normalement adoptées dans le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les étalons et les bandelettes utilisées doivent être traitées comme des résidus infectés, puis éliminés conformément aux dispositions de la loi.

Avertissements en matière de sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument CHORUS/CHORUS TRIO.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit, consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur le site Internet de DIESSE : www.diesse.it)
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de sodium dans un volume suffisant pour obtenir une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.
6. Tout déversement de matériaux potentiellement infectés doit être immédiatement éliminé à l'aide de papier absorbant et la zone polluée doit être décontaminée, par exemple avec de l'hypochlorite de sodium à 1 %, avant de poursuivre le travail. Si un acide est présent, l'hypochlorite de sodium ne doit pas être utilisé avant que la zone ait été séchée. Tous les matériaux utilisés pour décontaminer les déversements accidentels, y compris les gants, doivent être éliminés comme des déchets potentiellement infectieux. Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Avertissements analytiques

Avant utilisation, les dispositifs doivent être amenés à température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes et être utilisés dans les 60 minutes.

1. **Jeter les dispositifs dont le substrat (puits 4) est coloré en bleu.**
2. Lors de l'ajout de l'échantillon dans le puits, vérifier qu'il soit parfaitement réparti sur le fond.
3. Vérifier la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif en question. Ne pas utiliser de dispositifs dont l'examen visuel révèle l'absence de tout réactif et/ou de corps étrangers dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument CHORUS/CHORUS TRIO, en respectant strictement le mode d'emploi et le manuel de l'utilisateur de l'instrument.
L'utilisation du kit n'est possible qu'avec une version actualisée du logiciel. S'assurer que le logiciel installé dans l'instrument corresponde ou a une Release (Rel.) supérieure au tableau publié sur le site web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Vérifier que l'instrument soit correctement configuré (voir le manuel de l'utilisateur CHORUS/CHORUS TRIO).
6. Ne pas modifier le code-barres de la poignée du dispositif afin qu'il puisse être lu correctement par l'instrument.
7. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons.
8. Les codes-barres défectueux peuvent être introduits manuellement dans l'instrument (voir le manuel de l'utilisateur).

9. Ne pas exposer les dispositifs à une lumière forte ou à des vapeurs d'hypochlorite pendant le stockage et l'utilisation.
10. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques, jaunâtres avec une concentration d'interférents plus élevée que celle testée (conformément aux indications du chapitre "Spécificité analytique")..
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
12. **Vérifier que l'instrument dispose d'une connexion avec le Washing Buffer Autoimmunity (Ref 86004)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit est suffisant pour 36 déterminations (RÉF 86010).

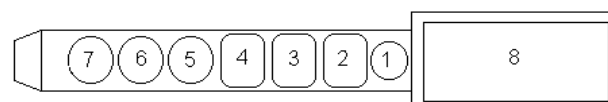
Le kit est suffisant pour 12 déterminations (RÉF 86010/12).

DD DISPOSITIFS

6 paquets de 6 dispositifs chacun (RÉF 86010).

2 paquets de 6 dispositifs chacun (RÉF 86010/12).

Description :



Position 8 : Espace disponible pour l'étiquette code-barres

Position 7 : Vide

Position 6 : Puits de microplaque

Sensibilisé avec un mélange d'antigènes recombinants et/ou hautement purifiés

Position 5 : Puits de microplaque

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 0,26 mg/mL et H₂O₂ 0,01% stabilisés dans un tampon citrate 0,05 mol/L (pH 3,8)

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

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

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu :

anticorps monoclonaux 18-13 anti-IgG humains 0,6 µg/ml-0,075 µg/ml marqués à la peroxydase ; dans une solution tampon phosphate contenant 0,05% de Phénol et 0,02% de Bronidox

Position 1 : Puits vide

Où l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante,

ouvrir le sachet, retirer les dispositifs nécessaires ; placer les autres dans le sachet contenant le gel de silice, laisser l'air s'échapper et **sceller** en appuyant sur la fermeture. Conserver à 2/8 °C.

CALIBRATOR ÉTALON 1 x 0.175 ml

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 et CenpB et conservateur (Proclin = 0.1%, Tween-20 = 0.2%, Orange de méthyle = 7,5 µg/ml). Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 ml

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 et CenpB et conservateur (Proclin = 0.1% ,Tween-20= 0.2%, Orange de méthyle =7,5 µg/ml). Liquide, prêt à l'emploi.

La fiabilité des mesures de l'étalon et du contrôle positif est garantie par la chaîne de traçabilité décrite ci-dessous.

L'Étalon et le Contrôle Positif sont produits à partir d'un échantillon humain présentant une concentration connue d'antigènes dilués pour atteindre une concentration spécifique dont la plage dépend du lot et est attribuée lors la phase de libération du contrôle qualité à l'aide d'une série d'étalons secondaires (« Working calibrator »).

Les « Working calibrator » sont préparés et caractérisés en fonction d'un panel de sérums humains de référence présentant différents niveaux d'antigènes.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS 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 désionisée
- Verrerie de laboratoire normale : cylindres, tubes à essai, etc.
- Micropipettes capables de prélever avec précision des volumes de 50 à 200 µl.
- Gants jetables
- Solution d'hypochlorite de sodium à 5 %
- Récipients pour la collecte de matériel potentiellement infecté

6. MODE DE STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8 °C. En cas de température de stockage incorrecte, l'étalonnage doit être répété et l'exactitude du résultat doit être vérifiée à l'aide du sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET STOCKAGE

Le type d'échantillon est le sérum obtenu à partir de sang prélevé par ponction veineuse et manipulé conformément aux procédures de laboratoire standard.

Selon la directive H18-A3 du CLSI, les échantillons de sérum à analyser doivent être coagulés avant d'être centrifugés ; la coagulation spontanée et complète se produit normalement en 30 à 60 minutes à une température de 22 à 25 °C. Il est recommandé de séparer physiquement le sérum, par centrifugation, du contact avec les cellules dès que possible, avec un délai maximum de 2 heures à partir du moment du prélèvement.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé 4 jours à 2/8 °C ; pour des périodes de stockage plus longues, congeler à température ≤ -20 °C pendant au moins 38 mois.

L'échantillon peut subir un maximum de 3 décongélations.

Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Après décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant de le doser.

L'inactivation par la chaleur peut donner des résultats erronés. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement affectée par la contamination microbienne, ce qui peut conduire à des résultats erronés.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (côté contenant le joint à pression), retirer le nombre de dispositifs nécessaires à la réalisation des tests et conserver les autres en fermant le sachet après avoir laissé sortir l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif conformément aux instructions du chapitre 4 Mises en garde analytiques.
3. Répartir 50 µl de sérum non dilué à analyser dans le puits n° 1 de chaque dispositif. À chaque changement de lot, utiliser un dispositif pour l'étalon.
4. Introduire les dispositifs sur l'instrument CHORUS/CHORUS TRIO. Effectuer l'étalonnage (si nécessaire) et les tests conformément au manuel d'utilisation de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu en le traitant comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le sérum de contrôle positif a une valeur en dehors de la limite acceptable, l'étalonnage doit être effectué à nouveau. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du sérum de contrôle continue à se situer en dehors de la fourchette acceptable, contacter l'assistance clientèle.

Tél : 0039 0577 319554
courriel : scientificsupport@diesse.it
: customercare@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument CHORUS/CHORUS TRIO fournit le résultat en indice (OD échantillon/OD cut-off).

Le test sur le sérum testé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est ≥ 1.2

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 0.8

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE : lorsque le résultat est compris entre 0.8 et 1.2

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

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues doivent être interprétées avec soin, sans négliger les 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 toujours être évalué avec les données de l'histoire du patient et/ou d'autres investigations diagnostiques.

12. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

5 échantillons ont été testés (2 Négatifs, 1 à Cut-Off 2 Positifs) auxquels les substances interférentes suivantes ont été ajoutées :

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

La présence des substances interférentes susmentionnées dans le sérum à tester ne modifie pas le résultat du test.

13. CROSS-RÉACTIFS

24 échantillons, positifs pour PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, Cardiolipine, Gliadine, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, Intrinsic Factor, tTgG, tTgA et ASCA ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été détectée.

14. ÉTUDES COMPARATIVES

Dans un essai, 56 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et un autre kit commercial

Voici un aperçu des données expérimentales :

Diesse		Référence		
		+	-	Total
	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Total	20	36	56

Pourcentage d'accord positif (~Sensibilité diagnostique) :

85.0% $CI_{95\%}$: 63.9- 94.5

Pourcentage d'accord négatif (~Spécificité diagnostique) :

100.0% $CI_{95\%}$: 90.3- 99.9

Valeur Prédicte Positive (VPP) = 100 % $CI_{95\%}$: 100.0

Valeur Prédicte Négative (VPN) = 92,3% $CI_{95\%}$:85,3-100,0

Le degré de concordance entre les deux méthodes est excellent avec une valeur K (Constante de Cohen) de 0,89.

15. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

Échantillon	Au sein de la session		Entre les sessions	
	Moyenne Indice	CV%	Moyenne Indice	CV%
1	0.2	25.0*	0.1	-

2	0.4	12.5	0.4	12.5
3	0.5	6.0	0.5	10.0
4	0.8	6.3	0.9	5.6
5	1.1	8.2	1.1	4.5
6	1.3	4.6	1.3	6.2
7	1.5	4.7	1.6	5.6
8	1.8	4.4	1.9	3.7

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne Indice	CV%	Moyenne Indice	CV%
1	0.2	30.0*	0.2	30.0*
2	0.4	-	0.4	-
3	0.6	10.0	0.6	10.0
4	0.8	-	0.8	-
5	1.1	-	1.1	5.5
6	1.3	-	1.3	7.7
7	1.6	-	1.6	6.3
8	1.9	-	1.9	6.3

*Artifart dû à l'effet connu du coefficient de variation, qui devient extrêmement sensible aux variations (même très faibles) lorsque la valeur moyenne est proche de zéro.

16. BIBLIOGRAPHIE

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
2. Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
3. Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
4. Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
5. Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
7. O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
8. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. SIGNALISATION D'INCIDENT

Si un incident grave s'est produit en relation avec cet appareil sur le territoire de l'Union européenne, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS ANA-8

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

το προϊόν CHORUS ANA-8 είναι ένα ανοσολογικό kit για τον αυτοματοποιημένο ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κατηγορίας IgG (αντιπυρηνικά αντισώματα, ANA) κατά 8 διαφορετικών κυτταρικών και πυρηνικών αντιγόνων (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 και CenpB).

Δεδομένου ότι τα αντισώματα ANA χρησιμοποιούνται ευρέως ως ορολογικός δείκτης της συστηματικής αυτοάνοσης ρευματικής νόσου, το kit χρησιμοποιείται ως βοήθημα για τη διάγνωσή της.

Η δοκιμή, η οποία εκτελείται σε ανθρώπινο ορό με τη χρήση μιας συσκευής μίας χρήσης που συνδέεται με τα όργανα CHORUS και CHORUS TRIO, πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από επαγγελματίες, υπαλλήλους εργαστηρίου.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σημαντικό ρόλο στη διαφορική διάγνωση των συστηματικών ρευματικών παθήσεων, κατέχει ο ορολογικός προσδιορισμός των αντι-πυρηνικών αντισωμάτων (ANA). Αρχικά, ο προσδιορισμός των ANA γινόταν με ένα έμμεσο τεστ ανοσοφθορισμού (IFT) πάνω σε ευκαρυωτικά κύτταρα, για παράδειγμα κύτταρα HeLa. Ο ανοσοφθορισμός επιτρέπει την διάκριση των μεμονωμένων αντισωμάτων, όμως ο προσδιορισμός των αυτό-αντισωμάτων στο τεστ ELISA με αντίστοιχα ειδικά αντιγόνα, επιτρέπει μία πιο εύκολη και αξιόπιστη διαφοροποίηση των ANA ανάλογα με τη σχετική ειδικότητα. Αντισώματα ANA ανιχνεύονται σε ασθενείς που πάσχουν από συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) σε ύφεση ή σε έξαρση, από μεικτή νόσο του συνδετικού ιστού (MCTD), σκληροδερμία, πολυμυοσίτιδα και άλλες παθολογίες.

Τα αντισώματα αντι-:

- Sm (αντιγόνο Smith) επιτίθενται εναντίον των πυρηνικών πρωτεϊνών (B, B', D1-D3, E, F, G) μικρών πυρηνικών ριβονουκλεοπρωτεϊνών (snRNPs). Όπως τα αντισώματα αντι-DNA διπλής έλικας (dsDNA), τα αντι-Sm είναι σε υψηλό βαθμό ειδικά για τον ΣΕΛ, και γι' αυτό τον λόγο αντιπροσωπεύουν ένα από τα βασικά κριτήρια στην διάγνωση του ΣΕΛ.
- U1snRNP συνδέονται με την πρωτεΐνη 70 kDa του U1 snRNP. Είναι χαρακτηριστικά των μεικτών νόσων του συνδετικού ιστού και, με υψηλούς τίτλους, του Συνδρόμου Sharp.
- Του Συμπλόκου snRNP/Sm επιτίθενται εναντίον των πρωτεϊνών Sm και snRNP (70 kDa, A και C). Ανιχνεύονται στον ΣΕΛ, στο Σύνδρομο Sjogren, στην σκληροδερμία και στην πολυμυοσίτιδα.

- SS-A (Ro) και τα αντισώματα αντι-SS-B (La) ανιχνεύονται κυρίως με υψηλούς τίτλους, στο Σύνδρομο Sjogren, πρωτοπαθές και δευτεροπαθές, αλλά ανιχνεύονται και στον ΣΕΛ, στον συγγενή καρδιακό αποκλεισμό και στον νεογνικό λύκο.
- CenpB (κεντρομεριδική πρωτεΐνη B 80 kDa) είναι χαρακτηριστικά του Συνδρόμου CREST (στο 69% των ασθενών που πάσχουν από το Σύνδρομο Crest), και είναι μία μορφή της συστηματικής σκληροδερμίας με λιγότερο σοβαρή εξέλιξη.
- Scl-70 επιτίθενται εναντίον της DNA-τοποϊσομεράσης Ι. Είναι ειδικά σε υψηλό βαθμό για την συστηματική σκληροδερμία και είναι ένδειξη σοβαρής παθολογικής εξέλιξης.
- Jo-1 επιτίθενται εναντίον της ιστιδυλ-tRNA συνθετάσης (μία κυτταροπλασματική πρωτεΐνη της πρωτεϊκής βιοσύνθεσης). Ανιχνεύονται σε ποσοστό 20-40% στους ασθενείς που πάσχουν από πολυμυοσίτιδα και δερματομυοσίτιδα.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η συσκευή Chorus ANA-8 είναι έτοιμη προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG κατά 8 διαφορετικών κυτταρικών και πυρηνικών αντι-αντιγόνων στα όργανα CHORUS/CHORUS TRIO.

Η δοκιμή βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Τα αντιγόνα συνδέονται με τη στερεά φάση. Οι συγκεκριμένες ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από εκπλύσεις 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 μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων στον ορό υπό εξέταση.

Οι συσκευές μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση της δοκιμής όταν εφαρμόζονται στα όργανα CHORUS/CHORUS TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Δείκτης (Index) (DO δείγματος/DO cut-off) και υπολογίζονται με αναφορά το CDC Atlanta.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το kit περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε τεστ για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Δεδομένου ότι κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσμένο. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους κανόνες 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 στη

συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Προειδοποιήσεις προσωπικής ασφάλειας

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 τις συσκευές στο όργανο CHORUS/CHORUS TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο στον δικτυακό τόπο της DIESSE: www.diesse.it)
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. Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την απολύμανση τυχαιών διαρροών, συμπεριλαμβανομένων των γαντιών, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές προειδοποιήσεις

Πριν από τη χρήση, φέρτε τις συσκευές που θα χρησιμοποιηθούν σε θερμοκρασία δωματίου (18-30°C) για τουλάχιστον 30 λεπτά και χρησιμοποιήστε τις εντός 60 λεπτών.

1. **Απορρίψτε τις συσκευές με υπόστρωμα (κυψελίδα 4) χρώματος μπλε.**
2. Κατά την προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα, ελέγξτε ότι το δείγμα είναι ομοιόμορφα καταμεμημένο στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε την πραγματική παρουσία των αντιδραστηρίων στη συσκευή και την ακεραιότητα της ίδιας της συσκευής. Μην χρησιμοποιείτε συσκευές οι οποίες, κατά την οπτική επιθεώρηση, παρουσιάζουν έλλειψη αντιδραστηρίου ή/και ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το όργανο CHORUS/CHORUS TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

Η χρήση του κιτ είναι δυνατή μόνο με μια ενημερωμένη έκδοση λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στο όργανο ταιριάζει ή έχει έκδοση (Rel.) υψηλότερη από τον πίνακα που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse

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

5. Ελέγξτε ότι το όργανο CHORUS/CHORUS TRIO έχει ρυθμιστεί σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης).

6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό στη λαβή της συσκευής, ώστε το όργανο να μπορεί να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων.
8. Οι ελαττωματικοί γραμμωτοί κώδικες μπορούν να εισαχθούν χειροκίνητα στο όργανο (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης).
9. Μην εκθέτετε τις συσκευές σε έντονο φως ή ατμούς υποχλωριώδους κατά την αποθήκευση και τη χρήση.
10. Μην χρησιμοποιείτε αιμολυμένα, λιπαιμικά, ίκτερο δείγματα με υψηλότερη συγκέντρωση παρεμβολών από την δοκιμασμένη (σύμφωνα με τις οδηγίες στο κεφάλαιο "Αναλυτική ειδικότητα").
11. Μην χρησιμοποιείτε τη συσκευή μετά την ημερομηνία λήξης
12. **Ελέγξτε ότι το όργανο διαθέτει σύνδεση με το Washing Buffer Autoimmunity (Κωδ. 86004.)**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ επαρκεί για 36 προσδιορισμούς (ΚΩΔ. 86010).

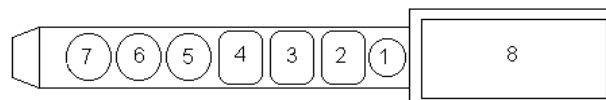
Το κιτ επαρκεί για 12 προσδιορισμούς (ΚΩΔ. 86010/12).

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ

6 πακέτα των 6 συσκευών το καθένα (ΚΩΔ. 86010).

2 πακέτα των 6 συσκευών το καθένα (ΚΩΔ. 86010/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: Άδεια

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με ένα μείγμα αντιγόνων ανασυνδυασμένων και/ή υψηλά κεκαθαρμένων

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 περιέχει Proclin (0.1%)

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο:

Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα 18-13 αντί-IgG 0.6 µg/ml-0.075 µg/ml μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bionidox 0.02%

Θέση 1: ΚΕΝ'Η ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Όπου ο χρήστης πρέπει να διανείμει τον μη αραιωμένο ορό.

Χρήση: ισορροπήστε ένα φακελάκι σε θερμοκρασία δωματίου, ανοίξτε το φακελάκι, βγάλτε τις απαιτούμενες συσκευές· τοποθετήστε τις υπόλοιπες στο φακελάκι που περιέχει πυριτική γέλη, αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Φυλάσσεται στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG αντί-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 και CenpB και συντηρητικό (Proclin = 0.1% , Tween-20= 0.2%, Methyl orange=7.5 µg/ml). Υγρό, έτοιμο προς χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG αντί-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 και CenpB και συντηρητικό (Proclin = 0.1% , Tween-20= 0.2%, Methyl orange=7.5 µg/ml). Υγρό, έτοιμο προς χρήση.

Η αξιοπιστία των μετρήσεων του Βαθμονομητή και του Θετικού Μάρτυρα διασφαλίζεται από την αλυσίδα ιχνηλασιμότητας που περιγράφεται κατωτέρω.

Ο Βαθμονομητής και ο Θετικός Μάρτυρας παράγονται από ένα ανθρωπινό δείγμα με γνωστή συγκέντρωση αντιγόνων αραιωμένων σε συγκεκριμένη συγκέντρωση, το εύρος της οποίας εξαρτάται από την παρτίδα και αποδίδεται κατά τη φάση απελευθέρωσης του ποιοτικού ελέγχου με τη χρήση μιας σειράς δευτερευόντων βαθμονομητών ("Working calibrator").

Οι "Working calibrator" παρασκευάζονται και χαρακτηρίζονται σύμφωνα με μια ομάδα ανθρωπίνων ορών αναφοράς με διαφορετικά επίπεδα αντιγόνων.

ΆΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [ΚΩΔ.] 86004
- CLEANING SOLUTION [Διάλυμα καθαρισμού] 2000 [ΚΩΔ.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [Απολυμαντικό διάλυμα] [ΚΩΔ.] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [Αρνητικός μάρτυρας/Αραιωτικό δείγματος] [ΚΩΔ.] 83607
- Όργανο CHORUS/CHORUS TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 µl.
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για τη συλλογή δυνητικά μολυσμένων υλικών

6. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να συντηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση λανθασμένης θερμοκρασίας συντήρησης, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και πρέπει να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος με τη βοήθεια του θετικού μάρτυρα (βλ. κεφάλαιο 9: Επικύρωση της δοκιμής).

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

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

ΣΥΣΚΕΥΕΣ

8 εβδομάδες στους 2/8°C

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

7. ΤΥΠΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

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

Σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή H18-A3 της CLSI, τα δείγματα ορού για ανάλυση πρέπει να πηχτούν πριν από τη φυγοκέντρωση- η αυθόρμητη και πλήρης πήξη πραγματοποιείται συνήθως εντός 30-60 λεπτών στους 22°C-25°C. Συνιστάται ο φυσικός διαχωρισμός του ορού, με φυγοκέντρωση, από την επαφή με τα κύτταρα το συντομότερο δυνατό, με μέγιστο χρονικό όριο τις 2 ώρες από τη στιγμή της συλλογής.

Οι συνέπειες της χρήσης άλλων βιολογικών υγρών δεν είναι γνωστές.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C- για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης καταψύξετε σε θερμοκρασία ≤ -20°C για τουλάχιστον 38 μήνες.

Το δείγμα μπορεί να υποστεί το πολύ 3 αποψύξεις.

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

Η αδρανιοποίηση με θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από μικροβιακή μόλυνση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξετε το φακελάκι (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όλες τις συσκευές που απαιτούνται για τη διενέργεια των δοκιμών και κρατήστε τις υπόλοιπες κλείνοντας και πάλι το φακελάκι αφού αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής σύμφωνα με τις οδηγίες του κεφαλαίου 4 Αναλυτικές Προειδοποιήσεις.
3. Διανείμετε 50 µl μη αραιωμένου ορού προς ανάλυση στην κυψελίδα αριθ. 1 κάθε συσκευής, σε κάθε αλλαγή παρτίδας χρησιμοποιήστε μια συσκευή βαθμονόμησης.
4. Εισαγάγετε τις συσκευές στο όργανο CHORUS/CHORUS TRIO. Πραγματοποιήστε βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και τη δοκιμή σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Χρησιμοποιήστε τον ορό θετικού ελέγχου για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, υποβάλλοντάς τον σε επεξεργασία όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήση του οργάνου. Αν το όργανο προειδοποιήσει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτού ορίου, χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Εάν το αποτέλεσμα του θετικού μάρτυρα εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός του αποδεκτού εύρους, επικοινωνήστε με το Τμήμα Εξυπηρέτησης Πελατών.

Τηλ.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το όργανο CHORUS/CHORUS TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Index (DO δείγμα/DO cut-off).

Το τεστ στο δείγμα υπό εξέταση μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1.2

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 0.8

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 0.8 και 1.2

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε τη δοκιμή. Εάν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβоло/ασαφές, επαναλάβετε τη δειγματοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Όλες οι τιμές που λαμβάνονται χρειάζονται προσεκτική ερμηνεία χωρίς να αγνοούνται άλλοι δείκτες που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

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

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Εξετάστηκαν 5 δείγματα (2 Αρνητικά, 1 σε Cut-Off και 2 Θετικά) στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 IU/ml)

Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl - 250 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml - 30 mg/ml)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στον ορό κοπράνων δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα της εξέτασης.

13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΫΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Εξετάστηκαν 24 δείγματα, θετικά για PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, καρδιολιπίνη, γλιαδίνη, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, ενδογενή παράγοντα, tTgG, tTgA και ASCA.

Δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος, αναλύθηκαν 56 δείγματα με το kit Diesse και ένα άλλο εμπορικό kit. Ακολουθεί συνοπτική παρουσίαση των πειραματικών δεδομένων:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Σύνολο	20	36	56

Επί τοις εκατό θετική συμφωνία (~διαγνωστική ευαισθησία):

85.0% CI_{95%}: 63.9- 94.5

Επί τοις εκατό αρνητική συμφωνία (~διαγνωστική ειδικότητα):

100.0% CI_{95%}: 90.3- 99.9

Θετική προγνωστική αξία (PPV) =100% CI_{95%}: 100.0

Αρνητική προγνωστική αξία (NPV) =92,3% CI_{95%}:85,3-100,0

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων είναι εξαιρετικός με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0.89.

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση τιμή Index	CV%	Μέση τιμή Index	CV%
1	0.2	25.0*	0.1	-
2	0.4	12.5	0.4	12.5
3	0.5	6.0	0.5	10.0
4	0.8	6.3	0.9	5.6
5	1.1	8.2	1.1	4.5
6	1.3	4.6	1.3	6.2
7	1.5	4.7	1.6	5.6
8	1.8	4.4	1.9	3.7

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ οργάνων	
	Μέση τιμή Index	CV%	Μέση τιμή Index	CV%
1	0.2	30.0*	0.2	30.0*
2	0.4	-	0.4	-
3	0.6	10.0	0.6	10.0
4	0.8	-	0.8	-
5	1.1	-	1.1	5.5
6	1.3	-	1.3	7.7
7	1.6	-	1.6	6.3
8	1.9	-	1.9	6.3

*Τέχνασμα οφειλόμενο στο γνωστό αποτέλεσμα της διακύμανσης του συντελεστή που καθίσταται εξαιρετικά ευαίσθητος σε αλλαγές (ακόμα και σε πολύ μικρές), όταν η τιμή των μέσων είναι κοντά στο μηδέν.

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
- Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
- Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
- Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
- Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
- O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
- Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ

Εάν έχει συμβεί σοβαρό περιστατικό σε σχέση με τη συσκευή αυτή στην επικράτεια της Ευρωπαϊκής Ένωσης, παρακαλείστε να το αναφέρετε χωρίς καθυστέρηση στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους σας.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS ANA-8

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

1. USO PREVISTO

el producto CHORUS ANA-8 es un kit inmunológico para la determinación cualitativa automatizada de anticuerpos de clase IgG (anticuerpos antinucleares, ANA) frente a 8 antígenos celulares y nucleares diferentes (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 y CenpB).

Dado que los anticuerpos ANA se utilizan ampliamente como marcador serológico de la enfermedad reumática autoinmune sistémica, el kit se utiliza como ayuda para su diagnóstico.

La prueba, realizada en suero humano mediante un dispositivo desechable acoplado a los instrumentos CHORUS y CHORUS TRIO, sólo debe ser utilizada por personal de laboratorio profesional.

2. INTRODUCCIÓN

Para el diagnóstico diferencial de las enfermedades reumáticas sistémicas, la determinación serológica de los anticuerpos antinucleares (ANA) desempeña un papel decisivo. Originalmente, la determinación de ANA se realizaba mediante una prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFT) en células eucariotas, por ejemplo, células HeLa. La fluorescencia permite distinguir anticuerpos individuales, sin embargo, la determinación de autoanticuerpos en la prueba ELISA con los correspondientes antígenos específicos permite diferenciar los ANA de forma más fácil y fiable según su especificidad. Los anticuerpos ANA se encuentran en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) activo e inactivo, enfermedad mixta del tejido conectivo (MCTD), esclerodermia, polimiositis y otras enfermedades.

Los anticuerpos anti-:

- Sm (antígeno Smith) se dirigen contra las proteínas nucleares (B, B', D1-D3, E, F, G) de las pequeñas ribonucleoproteínas nucleares (snRNPs). Al igual que los anticuerpos anti-DNA de doble cadena (dsDNA), los anti-Sm son altamente específicos de LES y, por tanto, uno de los criterios para el diagnóstico de LES.
- U1snRNP se une a la proteína de 70 kDa de U1 snRNP. Son característicos de la enfermedad mixta del tejido conectivo y, con títulos elevados, del síndrome de Sharp.
- snRNP/Sm se dirigen contra las proteínas Sm y snRNP (70 kDa, A y C). Se encuentran en el LES, el síndrome de Sjogren, la esclerodermia y la polimiositis.

- Los anticuerpos SS-A (Ro) y anti-SS-B (La) se detectan principalmente en títulos elevados en el síndrome de Sjogren primario y secundario, pero también se encuentran en el LES, el bloqueo cardíaco congénito y el lupus neonatal.
- CenpB (proteína centromérica B de 80 kDa) son característicos del síndrome CREST (69% de los pacientes con Crest), que es una forma menos grave de esclerodermia sistémica.
- Las Scl-70 se dirigen contra la topoisomerasa I del ADN. Son muy específicos de la esclerodermia sistémica e indican una evolución patológica grave.
- Jo-1 se dirigen contra la histidil-ARNt sintetasa (una proteína citoplasmática de biosíntesis de proteínas). Se encuentran en el 20-40% de los pacientes con polimiositis y dermatomiositis.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS ANA-8 está listo para su uso para la determinación de anticuerpos IgG frente a 8 antígenos celulares y nucleares diferentes en instrumentos CHORUS/CHORUS TRIO.

La prueba se basa en el principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Los antígenos se unen a la fase sólida. Las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno tras la incubación con suero humano diluido. Tras el lavado para eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado consistente en anticuerpos anti-inmunoglobulina humana conjugados con peroxidasa de rábano picante. Se elimina el conjugado no unido y se añade el sustrato para la peroxidasa. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero de la prueba.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se aplican a los instrumentos CHORUS/CHORUS TRIO.

Los resultados se expresan en Índice (muestra OD/OD cut-off) calculado con referencia a CDC Atlanta.

4. PRECAUCIONES

SÓLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido analizados y han resultado negativos tanto para el HBsAg como para los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba de diagnóstico puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, todo material de origen humano debe considerarse potencialmente infectado. Todos los reactivos y muestras deben manipularse de acuerdo con las normas de seguridad normalmente adoptadas en el laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras usadas deben tratarse como residuos infectados y eliminarse de acuerdo con las disposiciones vigentes de la ley.

Advertencias de seguridad personal

1. No pipetear con la boca.

- Utilizar guantes desechables y protección ocular al manipular las muestras.
- Lavarse bien las manos después de insertar los dispositivos en el instrumento CHORUS/CHORUS TRIO.
- En cuanto a las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consulte la ficha de datos de seguridad (disponible en el sitio web de DIESSE: www.diesse.it).
- Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos deben desinfectarse añadiendo hipoclorito sódico en volumen suficiente para alcanzar una concentración final de al menos el 1%. Una exposición al 1% de hipoclorito sódico durante 30 minutos debería ser suficiente para garantizar una desinfección eficaz.
- Cualquier derrame de materiales potencialmente infectados debe retirarse inmediatamente con papel absorbente y la zona contaminada debe descontaminarse, por ejemplo con hipoclorito sódico al 1%, antes de continuar el trabajo. Si hay un ácido presente, no debe utilizarse hipoclorito sódico hasta que la zona se haya secado. Todos los materiales utilizados para descontaminar derrames accidentales, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos potencialmente infecciosos. No esterilizar en autoclave materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias analíticas

Ponga los dispositivos que vaya a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) durante al menos 30 minutos, y utilícelos antes de 60 minutos.

- Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) coloreado de azul.**
- Al añadir la muestra al pocillo, compruebe que esté perfectamente distribuida en el fondo.
- Compruebe la presencia real de los reactivos en el dispositivo y la integridad del propio dispositivo. No utilice aparatos que al inspeccionarlos visualmente muestren falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
- Los dispositivos deben utilizarse junto con el instrumento CHORUS/CHORUS TRIO, siguiendo estrictamente las instrucciones de uso y el manual del usuario del instrumento.
El uso del kit sólo es posible con una versión de software actualizada. Asegúrese de que el software instalado en el instrumento coincide o tiene una versión (Rel.) superior a la de la tabla publicada en el sitio web de Diesse.
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
- Compruebe que el instrumento CHORUS/CHORUS TRIO está configurado correctamente (consulte el Manual del usuario correspondiente).
- No altere el código de barras del mango del aparato para que éste pueda leerse correctamente.
- Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras.

- Los códigos de barras defectuosos pueden introducirse manualmente en el instrumento (consulte el Manual del usuario).
- No exponga los aparatos a una luz intensa ni a vapores de hipoclorito durante su almacenamiento y uso.
- No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas ni ictericas con una concentración de interferentes superior a la probada (ver las indicaciones que figuran en el capítulo «Especificidad analítica»).
- No utilice el aparato después de la fecha de caducidad.
- Compruebe que el instrumento dispone de una conexión con el Tampón de Lavado autoinmunidad (Ref. 86004.)**

5. COMPOSICIÓN DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El kit es suficiente para 36 determinaciones (REF 86010).

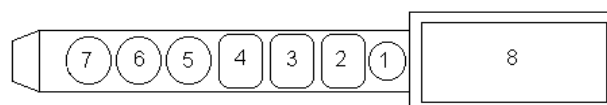
El kit es suficiente para 12 determinaciones (REF 86010/12).

DISPOSITIVOS

6 paquetes de 6 dispositivos cada uno (REF 86010).

2 paquetes de 6 dispositivos cada uno (REF 86010/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta de código de barras

Posición 7: Vacía

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizados con una mezcla de antígenos recombinantes y/o altamente purificados

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina 0,26 mg/mL y H₂O₂ 0,01% estabilizado en tampón citrato 0,05 mol/L (pH 3,8).

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución salina proteica con Proclin (0,1%)

Posición 2: CONJUGADO

Contenido:

anticuerpos monoclonales 18-13 anti-IgG humana 0,6 µg/ml-0,075 µg/ml marcados con peroxidasa; en solución amortiguadora de fosfato que contiene 0,05% de fenol y Bronidox 0,02%.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde el usuario debe dispensar el suero sin diluir.

Utilización: equilibrar un sobre a temperatura ambiente, abrir el sobre, sacar los dispositivos necesarios; introducir los demás en el sobre que contiene el gel de sílice, dejar salir el aire y sellar presionando sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 y CenpB y conservante (Proclin = 0,1% ,Tween-20= 0,2%, Naranja de metilo=7,5 µg/ml). Líquido, listo para usar

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 y CenpB y conservante (Proclin = 0,1% ,Tween-20= 0,2%, Naranja de metilo=7,5 µg/ml). Líquido, listo para usar

La fiabilidad de las mediciones del calibrador y del control positivo está garantizada por la cadena de trazabilidad descrita a continuación.

El calibrador y el control positivo se producen a partir de una muestra humana con una concentración conocida de antígenos diluida para alcanzar una concentración específica, cuyo rango depende del lote y se asigna durante la fase de liberación del control de calidad utilizando una serie de calibradores secundarios ("calibradores de trabajo").

Los calibradores de trabajo se preparan y caracterizan según un panel de sueros humanos de referencia con diferentes niveles de antígenos.

OTRO MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

- TAMPÓN DE LAVADO AUTOINMUNIDAD **REF** 86004
- SOLUCIÓN LIMPIADORA 2000 **REF** 83609
- SOLUCIÓN DESINFECTANTE **REF** 83604 - 83608
- CHORUS CONTROL NEGATIVO/ DILUYENTE DE MUESTRAS **REF** 83607
- Instrumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de vidrio normal de laboratorio: cilindros, probetas, etc.
- Micropipetas capaces de tomar con precisión volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito sódico al 5%
- Contenedores para la recogida de materiales potencialmente infectados

6. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8°C. En caso de que la temperatura de almacenamiento sea incorrecta, deberá repetirse el calibrado y comprobar el resultado con el suero de control (véase el capítulo 9: Validación de pruebas).

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada tras su 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 MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

El tipo de muestra es suero obtenido de sangre extraída por venopunción y manipulado según los procedimientos estándar de laboratorio.

Según la directriz H18-A3 del CLSI, las muestras de suero para análisis deben coagularse antes de la centrifugación; la coagulación espontánea y completa se produce normalmente en 30-60 minutos a 22°C-25°C. Se recomienda separar físicamente el suero, por centrifugación, del contacto celular lo antes posible con un plazo máximo de 2 horas desde el momento de la recogida.

Se desconocen las consecuencias del uso de otros fluidos biológicos.

El suero fresco puede conservarse durante 4 días a 2/8°C; para periodos de almacenamiento más largos, congélelo a una temperatura de ≤ -20°C por al menos 38 meses.

La muestra puede someterse a un máximo de 3 descongelaciones.

Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras. Tras la descongelación, agitar cuidadosamente la muestra antes de la dosificación.

La inactivación por calor puede proporcionar resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, lo que puede dar lugar a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abra el sobre (lado que contiene el sello de presión), saque el número de dispositivos necesarios para realizar los exámenes y conserve los demás cerrando de nuevo el sobre tras dejar salir el aire.
2. Compruebe visualmente el estado del aparato según las instrucciones del capítulo 4 Advertencias analíticas.
3. Dispense 50 µl de suero no diluido a analizar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo, en cada cambio de lote utilice un dispositivo calibrador.
4. Coloque los dispositivos en el instrumento CHORUS/CHORUS TRIO. Realice la calibración (si es necesario) y la prueba tal como se indica en el Manual de instrucciones del instrumento.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBAS

Utilice el suero de control para verificar la veracidad del resultado obtenido procesándolo como se indica en el Manual del usuario del instrumento. Si el instrumento indica que el suero de control tiene un valor fuera del límite aceptable, debe realizarse de nuevo la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo sigue estando fuera del intervalo aceptable, póngase en contacto con el Servicio de Atención al Cliente

Tel: 0039 0577 319554
 correo: scientificsupport@diesse.it
 electrónico: customercare@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El instrumento CHORUS/CHORUS TRIO proporciona el resultado en Índice (muestra OD/OD cut-off).

La prueba del suero problema puede interpretarse del siguiente modo:

POSITIVO: cuando el resultado es $> 1,2$

NEGATIVO: cuando el resultado es $< 0,8$

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está entre 0,8 y 1,2

En caso de resultado dudoso/equívoco, repita la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso/equívoco, repita el muestreo.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los valores obtenidos necesitan una interpretación cuidadosa sin dejar de lado otros indicadores relativos al mismo paciente.

De hecho, la prueba no puede utilizarse por sí sola para un diagnóstico clínico y el resultado de la prueba debe ser siempre evaluado junto con los datos de la historia clínica del paciente y/u otras investigaciones diagnósticas.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 5 muestras (2 Negativas, 1 Cut-Off y 2 Positivas) a las que se añadieron los siguientes interferentes:

Factor reumatoide (44-220 UI/ml)

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

Triglicéridos (10 mg/dl - 250 mg/dl)

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

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

13. REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizaron 24 muestras, positivas para PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, Cardiolipina, Gliadina, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, Factor Intrínseco, tTgG, tTgA y ASCA.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

14. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En un ensayo, se analizaron 56 muestras con kits Diesse y otro kit comercial.

A continuación se resumen los datos experimentales:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Total	20	36	56

Porcentaje de acuerdo positivo (~Sensibilidad diagnóstica):

85,0% $CI_{95\%}$: 63,9- 94,5

Porcentaje de acuerdo negativo (~Especificidad diagnóstica):

100,0% $CI_{95\%}$: 90,3- 99,9

Valor predictivo positivo (VPP) = 100% $CI_{95\%}$: 100,0

Valor predictivo negativo (VPN) = 92,3% $CI_{95\%}$: 85,3-100,0

El grado de concordancia entre los dos métodos es excelente con un valor K (constante de Cohen) de 0,89.

15. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Muestra	Dentro de la sesión		Entre sesiones	
	Índice medio	CV%	Índice medio	CV%
1	0,2	25,0*	0,1	-
2	0,4	12,5	0,4	12,5
3	0,5	6,0	0,5	10,0
4	0,8	6,3	0,9	5,6
5	1,1	8,2	1,1	4,5
6	1,3	4,6	1,3	6,2
7	1,5	4,7	1,6	5,6
8	1,8	4,4	1,9	3,7

Muestra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Índice medio	CV%	Índice medio	CV%
1	0,2	30,0*	0,2	30,0*
2	0,4	-	0,4	-
3	0,6	10,0	0,6	10,0
4	0,8	-	0,8	-
5	1,1	-	1,1	5,5
6	1,3	-	1,3	7,7
7	1,6	-	1,6	6,3
8	1,9	-	1,9	6,3

*Artefacto debido al conocido efecto de la Variación del Coeficiente, que se vuelve extremadamente sensible a las variaciones (incluso muy pequeñas) cuando el valor medio se aproxima a cero.

16. BIBLIOGRAFÍA

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
- Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
- Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
- Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
- Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
- O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
- Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

Si se ha producido un incidente grave relacionado con este aparato en el territorio comercial de la Unión Europea, notifíquelo sin demora al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS ANA-8

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

o produto CHORUS ANA-8 é um kit imunológico para a determinação qualitativa automatizada de anticorpos da classe IgG (anticorpos anti-nucleares, ANA) para 8 antígenos celulares e nucleares diferentes (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 e CenpB).

Uma vez que os anticorpos ANA são amplamente utilizados como marcador serológico da doença reumática sistêmica autoimune, o kit é utilizado como auxiliar de diagnóstico.

O teste, efetuado em soro humano utilizando um dispositivo descartável ligado aos instrumentos CHORUS e CHORUS TRIO, só deve ser utilizado por pessoal de laboratório profissional.

2. INTRODUÇÃO

Para o diagnóstico diferencial das doenças reumáticas sistêmicas, a determinação serológica dos anticorpos antinucleares (ANA) desempenha um papel decisivo. Originalmente, a determinação dos ANA era efetuada através de um teste de imunofluorescência indireta (IFT) em células eucarióticas, por exemplo, células HeLa. A fluorescência permite distinguir os anticorpos individuais, mas a determinação dos auto-anticorpos no teste ELISA com antígenos específicos correspondentes permite uma diferenciação mais fácil e fiável dos ANA de acordo com a sua especificidade. Os anticorpos ANA são encontrados em doentes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) ativo e inativo, conectivite mista (MCTD), esclerodermia, polimiosite e outras doenças.

Anticorpos anti-:

- Sm (antígeno Smith) são dirigidos contra as proteínas nucleares (B, B', D1-D3, E, F, G) de pequenas ribonucleoproteínas nucleares (snRNPs). Tal como os anticorpos anti-DNA de dupla hélice (dsDNA), os anti-Sm são altamente específicos para o LES e, por conseguinte, um dos critérios para o diagnóstico de LES.
- O U1snRNP liga-se à proteína de 70 kDa do U1 snRNP. São característicos da conectivite mista e, com títulos elevados, da Síndrome de Sharp.
- snRNP/Sm são dirigidas contra as proteínas Sm e snRNP (70 kDa, A e C). Encontram-se no LES, na síndrome de Sjogren, na esclerodermia e na polimiosite.
- Os anticorpos SS-A (Ro) e anti-SS-B (La) são principalmente detetados em títulos elevados na síndrome de Sjogren

primária e secundária, mas também são encontrados no LES, no bloqueio cardíaco congénito e no lúpus neonatal.

- CenpB (proteína centromérica B de 80 kDa) são características da síndrome CREST (69% dos doentes Crest), que é uma forma menos grave de esclerodermia sistêmica.
- As Scl-70 são dirigidas contra a DNA-topoisomerase I. São altamente específicos para a esclerodermia sistêmica e indicam uma evolução patológica grave.
- Jo-1 são dirigidos contra a histidil-RNAt sintetase (uma proteína citoplasmática de biossíntese de proteínas). Encontram-se em 20-40% dos doentes com polimiosite e dermatomiosite.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo CHORUS ANA-8 está pronto a ser utilizado para a determinação de anticorpos IgG contra 8 antígenos celulares e nucleares diferentes em instrumentos CHORUS/CHORUS TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Os antígenos estão ligados à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno após incubação com soro humano diluído. Após lavagem para remover as proteínas que não reagiram, procede-se à incubação com o conjugado constituído por anticorpos anti-imunoglobulina humana conjugados com peroxidase de rábano. O conjugado não ligado é removido e é adicionado o substrato para a peroxidase. A cor que se desenvolve é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro de teste.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para testes nos instrumentos CHORUS/CHORUS TRIO.

Os resultados são expressos em Index (OD amostra/OD cut-off) calculado com referência ao CDC Atlanta.

4. PRECAUÇÕES

PARA USO EXCLUSIVO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e considerados negativos tanto para o HBsAg como para os anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Uma vez que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia completa da ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infetado. Todos os reagentes e amostras devem ser manuseados de acordo com as regras de segurança normalmente adotadas no laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as tiras usados devem ser tratados como resíduos infetados e depois eliminados de acordo com a regulamentação.

Avisos de segurança pessoal

1. Não pipetar com a boca.
2. Utilizar luvas descartáveis e proteção ocular ao manusear as amostras.

3. Lave bem as mãos depois de inserir os dispositivos no instrumento CHORUS/CHORUS TRIO.
4. Consultar a Ficha de Dados de Segurança (disponível no sítio Web da DIESSE: www.diesse.it) para obter todas as informações de segurança sobre os reagentes contidos no kit.
5. Os ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados por adição de hipoclorito de sódio em volume suficiente para se obter uma concentração final de, pelo menos, 1%. Uma exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deve ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Qualquer derrame de materiais potencialmente infetados deve ser imediatamente removido com papel absorvente e a área contaminada deve 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 deve ser utilizado até que a área tenha sido seca. Todos os materiais utilizados para descontaminar derrames acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infecciosos. Não autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Avisos analíticos

Antes de utilizar, colocar os dispositivos à temperatura ambiente (18-30°C) durante pelo menos 30 minutos e utilizar no prazo de 60 minutos.

1. **Rejeitar os dispositivos com substrato (compartimento 4) de cor azul.**
2. Ao adicionar a amostra ao compartimento, verificar se está perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo. Não utilizar dispositivos que, após inspeção visual, mostrem falta de qualquer reagente e/ou corpos estranhos no compartimento de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados em conjunto com o instrumento CHORUS/CHORUS TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
A utilização do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou tem uma versão (Rel.) superior à tabela publicada no sítio Web da Diesse
[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/)
5. Verifique se o instrumento CHORUS/CHORUS TRIO está corretamente definido (consulte o Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras do punho do dispositivo para permitir a sua leitura correta pelo aparelho.
7. Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelação para o armazenamento de amostras.
8. Os códigos de barras defeituosos podem ser introduzidos manualmente no instrumento (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a luz intensa ou a vapores de hipoclorito durante o armazenamento e a utilização.

10. Não utilizar amostras hemolisadas, lipémicas, ictericas com maior concentração de interferentes do que as testadas (de acordo com as indicações do capítulo "Especificidade analítica").
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
12. **Verificar se o instrumento tem uma ligação ao Washing Buffer autoimmunity (Ref 86004.)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86010).

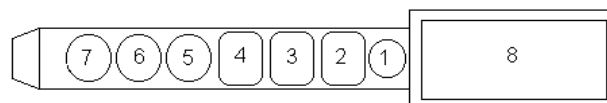
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86010/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86010).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86010/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para a etiqueta de código de barras

Posição 7: Vazio

Posição 6: COMPARTIMENTO DE MICROPLACA

Sensibilizados com uma mistura de antígenos recombinantes e/ou altamente purificados

Posição 5: COMPARTIMENTO DE 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 salina de proteínas com Proclin (0,1%)

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo:

anticorpos monoclonais 18-13 anti-IgG humana 0,6 µg/ml-0,075 µg/ml marcados com peroxidase; em solução tampão fosfato contendo 0,05% de fenol e Bronidox 0,02%.

Posição 1: COMPARTIMENTO VAZIO

Onde o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

Utilização: equilibrar um envelope à temperatura ambiente,

abrir o envelope, retirar os dispositivos necessários; colocar os outros no envelope que contém o gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** pressionando o fecho. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,175 ml

Conteúdo: Soro humano diluído contendo anticorpos IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 e CenpB e conservante (Proclin = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, alaranjado de metilo = 7,5 µg/ml). Líquido, pronto a utilizar.

CONTROLO **CONTROLO POSITIVO** 1 x 0,425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído contendo anticorpos IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 e CenpB e conservante (Proclin = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, alaranjado de metilo = 7,5 µg/ml). Líquido, pronto a utilizar.

A fiabilidade das medições do Calibrador e do Controlo Positivo é garantida pela cadeia de rastreabilidade descrita a seguir.

O Calibrador e o Controlo Positivo são produzidos a partir de uma amostra humana com uma concentração conhecida de antígenos diluída para uma concentração específica, cujo intervalo depende do lote e é atribuída durante a fase de libertação do controlo de qualidade utilizando uma série de calibradores secundários ("Working calibrator").

Os "Working calibrator" são preparados e caracterizados de acordo com um painel de soros humanos de referência com diferentes níveis de antígeno.

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Instrumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Material de vidro normal de laboratório: cilindros, tubos de ensaio, etc.
- Micropipetas capazes de recolher com exatidão volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Contentores para a recolha de materiais potencialmente infetados

6. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser armazenados a 2/8°C. No caso de uma temperatura de armazenamento incorreta, a calibração deve ser repetida e a correção do resultado verificada com o soro de controlo (ver Capítulo 9: Validação do teste).

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

Os reagentes têm uma estabilidade limitada após a abertura e/ou preparação:

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO

O tipo de amostra é o soro obtido a partir de sangue colhido por punção venosa e manipulado de acordo com os procedimentos laboratoriais habituais.

De acordo com a diretriz H18-A3 do CLSI, as amostras de soro para análise devem ser coaguladas antes da centrifugação; a

coagulação espontânea e completa ocorre normalmente em 30-60 minutos a 22°C-25°C. Recomenda-se a separação física do soro, por centrifugação, do contacto com as células o mais rapidamente possível, com um limite máximo de 2 horas a partir do momento da colheita.

As consequências da utilização de outros fluidos biológicos não são conhecidas.

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias a 2/8°C; para períodos de armazenamento mais longos, congele a temperatura ≤ -20°C durante, pelo menos, 38 meses.

A amostra pode ser submetida a um máximo de 3 descongelações.

Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelção para o armazenamento de amostras. Após a descongelção, agitar cuidadosamente a amostra antes de a dosear.

A inativação pelo calor pode produzir resultados errados. A qualidade da amostra pode ser seriamente afetada pela contaminação microbiana, o que pode levar a resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o envelope (lado que contém o selo de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para efetuar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o envelope depois de deixar sair o ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo de acordo com as instruções do capítulo 4 Avisos analíticos.
3. Distribuir 50 µl de soro não diluído a analisar no compartimento n.º 1 de cada dispositivo; em cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento CHORUS/CHORUS TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste de acordo com o Manual de Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o conforme indicado no Manual do Utilizador do Instrumento. Se o instrumento indicar que o soro de controlo tem um valor fora do limite aceitável, a calibração deve ser efetuada novamente. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo aceitável, contactar o serviço de atendimento ao Consumidor.

Tel: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento CHORUS/CHORUS TRIO fornece o resultado em Index (OD amostra/OD cut-off).

O teste do soro de teste pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado é $> 1,2$

NEGATIVO: quando o resultado é $< 0,8$

DUVIDOSO/EQUÍVOCO: quando o resultado se situa entre 0,8 e 1,2

No caso de um resultado duvidoso/equívoco, repetir o teste. Se o resultado continuar a ser duvidoso/equívoco, repetir a amostragem.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa sem descuidar outros indicadores relativos ao mesmo doente.

O teste não pode ser utilizado isoladamente para um diagnóstico clínico e o resultado do teste deve ser avaliado em conjunto com os dados do historial do doente e/ou de outros exames de diagnóstico.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras (2 negativas, 1 de exclusão e 2 positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes

Fator reumatoide (44-220 UI/ml)

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

Triglicéridos (10 mg/dl - 250 mg/dl)

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

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

13. CROSS-REATIVOS

Foram testadas 24 amostras, positivas para PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, Cardiolipina, Gliadina, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, Intrinsic Factor, tTgG, tTgA e ASCA.

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

14. ESTUDOS COMPARATIVOS

Num ensaio, 56 amostras foram analisadas com um kit Diesse e outro kit do comércio

Segue-se um diagrama dos dados experimentais:

		Referência		
		+	-	Total
	+	17	0	17
Diesse	-	3	36	39
	Total	20	36	56

Percentagem de concordância positiva (~Sensibilidade de diagnóstico):

85,0% IC95%: 63,9- 94,5

Percentagem de concordância negativa: (~Especificidade do diagnóstico): 100,0% IC95%: 90,3- 99,9

Valor preditivo positivo (VPP) =100% IC95%: 100,0

Valor preditivo negativo (NPV) =92,3% IC95%:85,3-100,0

O grau de concordância entre os dois métodos é excelente com um valor K (Constante de Cohen) de 0,89.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Na sessão		Entre sessões	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	25.0*	0.1	-
2	0.4	12.5	0.4	12.5
3	0.5	6.0	0.5	10.0
4	0.8	6.3	0.9	5.6
5	1.1	8.2	1.1	4.5
6	1.3	4.6	1.3	6.2
7	1.5	4.7	1.6	5.6
8	1.8	4.4	1.9	3.7

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.2	30.0*	0.2	30.0*
2	0.4	-	0.4	-
3	0.6	10.0	0.6	10.0
4	0.8	-	0.8	-
5	1.1	-	1.1	5.5
6	1.3	-	1.3	7.7
7	1.6	-	1.6	6.3
8	1.9	-	1.9	6.3

*Artifício devido ao efeito conhecido do Coeficiente de Variação, que se torna extremamente sensível a variações (mesmo muito pequenas) quando o valor médio é próximo de zero.

16. BIBLIOGRAFIA

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
- Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
- Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
- Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
- Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
- O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
- Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. COMUNICAÇÃO DE ACIDENTES

Se tiver ocorrido um acidente grave relacionado com este dispositivo no território de mercado da União Europeia, comunique-o imediatamente ao fabricante e à autoridade competente do seu Estado-Membro.



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS ANA-8

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZAREA PREVĂZUTĂ

produsul CHORUS ANA-8 este un kit imunologic pentru determinarea calitativă automată a anticorpilor din clasa IgG (anticorpi antinucleari, ANA) față de 8 antigene celulare și nucleare diferite (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 și CenpB).

Deoarece anticorpilor ANA sunt utilizați pe scară largă ca marker serologic al bolii reumatice autoimune sistemice, kitul este utilizat ca un ajutor pentru diagnosticarea acestora.

Testul, efectuat în ser uman cu ajutorul unui dispozitiv de unică folosință atașat la instrumentele CHORUS și CHORUS TRIO, ar trebui să fie utilizat numai de personalul profesionist de laborator.

2. INTRODUCERE

Pentru diagnosticul diferențial al bolilor reumatice sistemice, determinarea serologică a anticorpilor antinucleari (ANA) joacă un rol decisiv. Inițial, determinarea ANA era efectuată prin intermediul unui test de imunofluorescență indirectă (IFT) pe celule eucariote, de exemplu, celule HeLa. Fluorescența permite diferențierea anticorpilor individuali, însă determinarea autoanticorpilor în testul ELISA cu antigene specifice corespunzătoare permite o diferențiere mai ușoară și mai fiabilă a ANA în funcție de specificitatea lor. Anticorpilor ANA se găsesc la pacienții cu Lupus eritematos sistemic (LES) activ și inactiv, conectivită mixtă (MCTD), sclerodermie, polimiozită și alte boli.

Anticorpi anti-:

- Sm (Smith antigen) sunt îndreptați împotriva proteinelor nucleare (B, B', D1-D3, E, F, G) ale ribonucleoproteinelor nucleare mici (snRNP). La fel ca și anticorpilor anti-ADN dublu catenar (dsDNA), anticorpilor anti-Sm sunt foarte specifici pentru LES, de aceea reprezintă unul dintre criteriile de diagnosticare a LES.
- U1snRNP se leagă de proteina de 70 kDa a U1 snRNP. Acestea sunt caracteristice conectivității mixte și, în cazul unor titluri ridicate, sindromului Sharp.
- Complexul snRNP/Sm este îndreptat împotriva proteinelor Sm și snRNP (70 kDa, A și C). Acestea se întâlnesc la LES, sindromul Sjogren, sclerodermia și polimiozită.
- Anticorpilor SS-A (Ro) și anti-SS-B (La) sunt detectați în principal în titluri ridicate în sindromul Sjogren primar și

secundar, dar se găsesc și în LES, blocaj cardiac congenital și lupus neonatal.

- CenpB (Centromere Protein B de 80 kDa) sunt caracteristice sindromului CREST (69% dintre pacienții Crest), care reprezintă o formă mai puțin severă de sclerodermie sistemică.
- Scl-70 sunt îndreptate împotriva ADN-topozomerază I. Acestea sunt foarte specifice pentru sclerodermia sistemică și indică o evoluție patologică severă.
- Jo-1 sunt îndreptate împotriva histidil-ARNt sintetaza (o proteină citoplasmatică de biosinteză a proteinelor). Acestea se întâlnesc la 20-40% dintre pacienții cu polimiozită și dermatomiozită.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS ANA-8 este gata de utilizare pentru determinarea anticorpilor IgG îndreptați către 8 antigene celulare și nucleare diferite în instrumentele CHORUS/CHORUS TRIO. Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antigenele sunt legate de faza solidă. Imunoglobulinele specifice se leagă de antigen în urma incubării cu ser uman diluat. După spălare, pentru a îndepărta proteinele care nu au reacționat, se efectuează incubarea cu conjugatul constând din anticorpi umani anti-imunoglobuline conjugați cu peroxidază de hrean. Conjugatul nelegat este îndepărtat și se adaugă substratul pentru peroxidază. Culoarea care se dezvoltă este proporțională cu concentrația de anticorpi specifici prezenți în serul examinat.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului la instrumentele CHORUS/CHORUS TRIO. Rezultatele sunt exprimate în Index (probă OD/OD cut-off) calculate cu referire la CDC Atlanta.

4. PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE *IN VITRO*.

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și s-au dovedit negative, în urma testării, atât pentru prezența HBsAg, cât și pentru prezența anticorpilor anti-HIV-1, anti-HIV-2 și anti-HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele în materie de siguranță adoptate în mod normal în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și prin urmare, trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO.

4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă pe site-ul DIESSE: www.diesse.it)
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu într-un volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la hipoclorit de sodiu 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă este prezent un acid, hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat până când zona nu a fost uscată. Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute și utilizați-le în interval de 60 de minute.

1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența efectivă a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză. Nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.
Utilizarea kitului este posibilă numai cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument coincide sau are o Versiune (Ver.) mai recentă decât cea prezentată în tabelul publicat pe site-ul Diesse (<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
5. Verificați dacă instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO este setat corect (vezi Manualul de utilizare).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului, pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de utilizare).
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. Nu utilizați probe hemolizate, lipemice, icterizate cu o concentrație de interferenți mai mare decât cea testată (conform îndrumărilor din capitolul „Specificitatea analitică”).

11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare
12. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare (Ref 86004.)**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări (REF 86010).

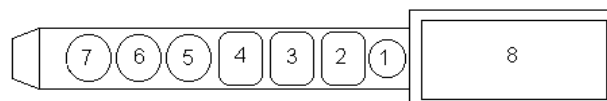
Kitul este suficient pentru 12 de determinări (REF 86010/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare (REF 86010).

2 pachete a câte 6 dispozitive fiecare (REF 86010/12).

Descriere:



Poziția 8: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 7: Goală

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

Sensibilizat cu un amestec de antigene recombinante și/sau foarte purificate

Poziția 5: GODEU DE MICROPLACĂ

Nesensibilizat.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină 0,26 mg/mL și H₂O₂ 0,01 % stabilizate în tampon citrat 0,05 mol/L (pH 3,8)

Poziția 3: DILUANT PENTRU PROBE

Conținut: soluție salină proteică care conține Proclin (0,1%)

Poziția 2: CONJUGAT

Conținut:

anticorpi monoclonali 18-13 anti-IgG umani 0.6 µg/ml-0.075 µg/ml marcați cu peroxidază; în soluție tamponată cu fosfat care conține 0,05% fenol și 0,2% Bronidox.

Poziția 1: GODEU GOL

Unde utilizatorul trebuie să distribuie serul nediluat.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei,

deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,175 ml

Conținut: Ser uman diluat care conține anticorpi IgG împotriva Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 și CenpB și conservant (Proclin = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, Methyl orange = 7,5 µg/ml). Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,425 ml

Conținut: Ser uman diluat care conține anticorpi IgG împotriva Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 și CenpB și conservant (Proclin = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, Metiloranj = 7,5 µg/ml). Lichid, gata de utilizare.

Fiabilitatea măsurătorilor calibratorului și ale controlului pozitiv este garantată de procesul de trasabilitate descris mai jos. Calibratorul și controlul pozitiv sunt produse pornind de la o probă umană cu concentrație cunoscută de antigene diluate pentru a atinge o concentrație specifică, al cărei interval depinde de lot și este atribuit în timpul fazei de eliberare a controlului calității, folosind o serie de calibratori secundari („calibratori de lucru”).

Calibratorii de lucru sunt pregătiți și caracterizați în funcție de un panel de seruri umane de referință cu diferite niveluri de antigen.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY REF 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 µl.
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu 5%
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. METODE DE PĂSTRARE ȘI STABILITATE A REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi de depozitare incorecte, calibrarea trebuie repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului prin intermediul serului de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta exterioră a ambalajului.

Reactivii au stabilitate limitată după deschidere și/sau preparare:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C

7. TIPUL DE PROBE ȘI DEPOZITARE

Tipul de probă constă în serul obținut din sângele recoltat prin puncție venoasă și manipulat în conformitate cu cerințele cuprinse în procedurile standard de laborator.

Conform ghidului CLSI H18-A3, probele de ser care urmează să fie analizate trebuie coagulate înainte de centrifugare; coagularea spontană și completă are loc în mod normal în interval de 30-60 de minute la 22°C-25°C. Se recomandă separarea fizică a serului, prin centrifugare, de contactul cu celulele cat mai curând posibil cu un timp limită de maxim 2 ore de la momentul colectării.

Consecințele utilizării altor fluide biologice nu sunt cunoscute.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la temperaturi ≤ -20°C pentru cel puțin 38 de luni

Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări.

Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. După decongelare, agitați cu atenție proba înainte de dozare.

Inactivarea la căldură poate furniza rezultate eronate. Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), scoateți numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv 50µl de ser nediluat pentru a fi analizat; la fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.
4. Introduceți dispozitivele pe instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea conform indicațiilor cuprinse în Manualul de instrucțiuni al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l așa cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că serul de control are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul serului de control continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați serviciu de îngrijire a clienților

Tel: 0039 0577 319554
email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO oferă rezultatul în Index (OD probă/cut-off OD).

Testul pe serul examinat poate fi interpretat astfel:

POZITIV: când rezultatul este > 1,2.

NEGATIV: când rezultatul este < 0,8

ÎNDOIELNIC/ECHIVOC: când rezultatul este cuprins între 0,8 și 1,2

În cazul unui rezultat îndoielnic/echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne îndoielnic/echivoc, repetați recoltarea.

11. LIMITĂRILE TESTULUI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă, care nu trebuie să facă abstracție de alți indicatori referitori la același pacient.

Testul nu poate fi folosit singur pentru un diagnostic clinic iar rezultatul testului trebuie evaluat întotdeauna împreună cu datele obținute din anamneza pacientului și/sau din alte investigații diagnostice.

12. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 5 probe (2 Negativă, 1 cu Cut-Off și 2 Pozitive) la care s-au adăugat următorii interferenți:

Factorul reumatoid (44-220 – UI/ml)

Bilirubină (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)

Trigliceride (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Hemoglobină (5 mg/ml – 30 mg/ml)

Prezența substanțelor interferente de mai sus în serul examinat nu modifică rezultatul testului.

13. CROSS-REACTIVI

Au fost testate 24 de probe, pozitive pentru PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, Cardiolipină, Gliadină, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, factor intrinsec, tTgG, tTgA și ASCA.

Nu au fost detectate reacții încrucișate semnificative.

14. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment, au fost analizate 56 de probe cu kitul Diesse și cu un alt kit disponibil în comerț.

În continuare sunt prezentate pe scurt datele obținute în urma experimentului:

		Referință		
		+	-	Total
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Total	20	36	56

Procent de acord pozitiv (~Sensibilitate de Diagnostic):

85,0% % CI_{95%}: 63,9- 94,5

Procent de acord negativ: (~Specificitate de Diagnostic):

100,0% CI_{95%}: 90,3- 99,9

Valoare predictivă pozitivă (PPV) = 100% CI_{95%}: 100,0

Valoare predictivă negativă (NPV) = 92,3% CI_{95%}: 85,3-100,0

Gradul de concordanță între cele două metode este optim. cu o valoare K (constanta lui Cohen) de 0,89.

15. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între ședințe	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0,2	25,0*	0,1	-
2	0,4	12,5	0,4	12,5
3	0,5	6,0	0,5	10,0

4	0,8	6,3	0,9	5,6
5	1,1	8,2	1,1	4,5
6	1,3	4,6	1,3	6,2
7	1,5	4,7	1,6	5,6
8	1,8	4,4	1,9	3,7

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0,2	30,0*	0,2	30,0*
2	0,4	-	0,4	-
3	0,6	10,0	0,6	10,0
4	0,8	-	0,8	-
5	1,1	-	1,1	5,5
6	1,3	-	1,3	7,7
7	1,6	-	1,6	6,3
8	1,9	-	1,9	6,3

* Artefact datorat efectului cunoscut al Variației Coeficientului care devine extrem de sensibil la variații (chiar și foarte mici) atunci când valoarea medie este aproape de zero.

16. BIBLIOGRAFIE

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
2. Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
3. Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
4. Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
5. Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
7. O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
8. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. RAPORTAREA INCIDENTELOR

Dacă a avut loc un incident grav în legătură cu acest dispozitiv pe teritoriul pieței Uniunii Europene, vă rugăm să îl raportați fără întârziere producătorului și autorității competente din Statul dumneavoastră membru.



INSTRUKCJA OBSŁUGI

CHORUS ANA-8

Tylko do diagnostyki *in vitro*

1. ZAMIERZONE ZASTOSOWANIE

Produkt CHORUS ANA-8 jest zestawem immunologicznym do jakościowego oznaczania zautomatyzowany przeciwciał klasy IgG (przeciwciał przeciwjądrowych, ANA) przeciwko 8 różnym antygenom komórkowym i jądrowym (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 i CenpB).

Ponieważ przeciwciała ANA są szeroko stosowane jako marker serologiczny ogólnoustrojowej autoimmunologicznej choroby reumatycznej, zestaw służy jako pomoc w jej diagnostyce.

Test wykonywany w surowicy ludzkiej przy użyciu jednorazowego wyrobu medycznego umieszczonego w aparatach CHORUS i CHORUS TRIO może być wykonywany wyłącznie przez profesjonalny personel laboratoryjny.

2. WPROWADZENIE

Serologiczne oznaczanie przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) odgrywa decydującą rolę w diagnostyce różnicowej układowych chorób reumatycznych. Pierwotnie oznaczenie ANA wykonywano przy użyciu pośredniego testu immunofluorescencyjnego (IFT) na komórkach eukariotycznych, np. komórkach HeLa. Fluorescencja umożliwia rozróżnienie poszczególnych przeciwciał, natomiast oznaczenie autoprzeciwciał w teście ELISA z odpowiednimi specyficznymi antygenami pozwala na łatwiejsze i bardziej wiarygodne rozróżnienie ANA według ich specyficzności. Przeciwciała ANA stwierdza się u pacjentów z aktywnym i nieaktywnym toczeniem rumieniowatym układowym (SLE), mieszaną chorobą tkanki łącznej (MCTD), twardziną skóry, zapaleniem wielomięśniowym i innymi chorobami.

Przeciwciała przeciwko:-

- Sm (antygen Smitha) są skierowane przeciwko białkom jądrowym (B, B', D1-D3, E, F, G) małych jądrowych rybonukleoprotein (snRNP). Podobnie jak przeciwciała przeciwko podwójnej helisie DNA (dsDNA), przeciwciała anti-Sm są wysoce swoiste dla SLE i dlatego stanowią jedno z kryteriów diagnozy SLE.
- U1snRNP wiąże się z białkiem U1 snRNP o masie 70 kDa. Są charakterystyczne dla połączeń mieszanych i, przy wysokich mianach, dla zespołu Sharpa.
- Kompleks snRNP/Sm jest skierowany przeciwko białkom Sm i snRNP (70 kDa, A i C). Występują w SLE, zespole Sjögrena, twardzinie skóry i zapaleniu wielomięśniowym.

- Przeciwciała SS-A (Ro) i anti-SS-B (La) wykrywane są w dużych ilościach głównie w pierwotnym i wtórnym zespole Sjögrena, ale występują także w SLE, wrodzonym bloku serca i toczniu noworodkowym.
- CenpB (80 kDa centromerowe białko B) są charakterystyczne dla zespołu CREST (69% pacjentów z CREST), mniej ciężkiej postaci twardziny układowej.
- Scl-70 są skierowane przeciwko DNA-topoizomerazie I. Są wysoce specyficzne dla twardziny układowej i wskazują na ciężki przebieg patologiczny.
- Jo-1 są skierowane przeciwko syntetazie histydylo-tRNA (biosynteza białek cytoplazmatycznych). Występują u 20–40% pacjentów z zapaleniem wielomięśniowym i skórno-mięśniowym.

3. ZASADA METODY

Wyrób medyczny CHORUS ANA-8 jest gotowy do użycia do oznaczania przeciwciał IgG skierowanych przeciwko 8 różnym antygenom komórkowym i jądrowym w aparatach CHORUS/CHORUS TRIO.

Test oparty jest na technice ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antygeny są związane 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.

Wyroby jednorazowe zawierają wszystkie odczynniki przeznaczone do badań w aparatach CHORUS/CHORUS TRIO. Wyniki wyrażono jako wskaźnik (OD próbki/punktu odcięcia OD) obliczony według CDC Atlanta.

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

TYLKO DO DIAGNOSTYKI *IN VITRO*.

Ten zestaw zawiera materiały pochodzenia ludzkiego, które zostały przetestowane i uznane za ujemne zarówno dla HBsAg, jak i przeciwciał anti-HIV-1, anti-HIV-2 i anti-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.

- Po włożeniu wyrobu do aparatu CHORUS/CHORUS TRIO należy dokładnie umyć ręce.
- Wszystkie informacje dotyczące bezpieczeństwa dotyczące odczynników zawartych w zestawie można znaleźć w karcie charakterystyki (dostępnej na stronie internetowej DIESSE: www.diesse.it).
- 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.
- Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy odkażać, 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 zakażone. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

Przed użyciem należy doprowadzić wyroby medyczne przeznaczone do użycia do temperatury pokojowej (18-30°C) na co najmniej 30 minut i zużyć w ciągu 60 minut.

- Wyrzucić wyroby z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.**
- Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie rozprowadzona na dnie.
- Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego urządzenia. Nie należy używać wyrobów, które przy kontroli wzrokowej wykazują brak jakiegokolwiek odczynnika i/lub ciał obcych w studziencie reakcyjnej.
- Wyroby muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus/Chorus TRIO, zwracając szczególną uwagę na instrukcję obsługi aparatu i instrukcję użytkownika.
Korzystanie z zestawu jest możliwe tylko z zaktualizowaną wersją oprogramowania. Upewnij się, że oprogramowanie zainstalowane w urządzeniu jest zgodne lub ma wersję (Rel.) wyższą niż w tabeli opublikowanej na stronie internetowej Diesse (<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
- Sprawdzić, czy aparat CHORUS/CHORUS TRIO jest prawidłowo skonfigurowany (patrz instrukcja użytkownika).
- Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie urządzenia, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez urządzenie.
- Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek.
- Wadliwe kody kreskowe mogą być ręcznie wprowadzone do urządzenia (patrz Instrukcja obsługi).
- Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać urządzeń na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.

- Nie należy używać próbek hemolizowanych, lipemicznych, z żółtaczką, w których stężenie substancji zakłócających jest wyższe niż badane (zgodnie ze wskazówkami zawartymi w rozdziale „Specyfika analityczna”).
- Nie należy używać wyrobu po upływie terminu ważności.
- Sprawdzić, czy aparat ma połączenie z Bufor płuczący autoimmunizacji (ref 86004).**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na 36 oznaczeń (REF 86010).

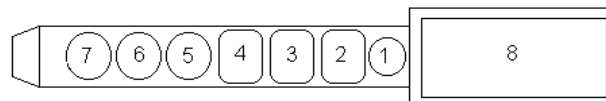
Zestaw wystarcza na 12 oznaczeń (REF 86010/12).

DD URZĄDZENIA

6 opakowania po 6 urządzeń (REF 86010).

2 opakowania po 6 urządzeń (REF 86010/12).

Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: Puste

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

Uczulony przez mieszanie rekombinowanych i/lub wysoce oczyszczonych antygenów

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

Nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozycja 3: ROZCIEŃCZALNIK DO PRÓBEK

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

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość:

Zawartość: przeciwciała monoklonalne 18-13 przeciwko ludzkiej IgG 0,6 µg/ml - 0,075 µg/ml znakowane peroksydazą w roztworze buforowanym fosforanami zawierającym 0,05% fenolu i 0,02% Bronidox.

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA

Gdzie użytkownik musi dozować nierozcieńczoną surowicę.

Sposób użycia: doprowadzić kopertę do temperatury pokojowej. otworzyć kopertę, wyjąć wymagane wyroby; 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 IgG anty-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 i CenpB oraz środek konserwujący (Proclin = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, oranż metylowy = 7,5 µg/ml). Płynna, gotowa do użycia.

CONTROL + KONTROLA POZYTYWNA 1 x 0.425 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka zawierająca przeciwciała IgG anti-Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 i CenpB oraz środek konserwujący (Proclin = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, oranż metylowy = 7,5 µg/ml). Płynna, gotowa do użycia.

Wiarygodność pomiarów Kalibratora i Kontroli dodatniej jest gwarantowana przez łańcuch identyfikowalności opisany poniżej.

Kalibrator i Kontrola dodatnia są wykonane z próbki ludzkiej o znanym stężeniu przeciwciał, rozcieńczonej do osiągnięcia określonego stężenia, którego zakres zależy od partii i przypisuje się podczas fazy uwalniania kontroli jakości przy użyciu serii wtórnych kalibratorów („Kalibrator roboczy”).

„Kalibratory robocze” są przygotowywane i charakteryzowane w porównaniu z panelem ludzkich surowic referencyjnych o różnych poziomach antygenu.

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF](#) 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF](#) 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF](#) 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [ODN](#) 83607
- Aparat CHORUS/CHORUS TRIO
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykłe 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:

WYROBY	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KALIBRATOR	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KONTROLA DODATNIA	8 tygodni w temperaturze 2/8°C

7. RODZAJ PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

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

Zgodnie z wytycznymi CLSI H18-A3 próbki surowicy przeznaczone do analizy muszą zostać poddane koagulacji przed wirowaniem; samoistna i całkowita koagulacja następuje zwykle w ciągu 30-60 minut w temperaturze 22°C-25°C. Zaleca się jak najszybsze oddzielenie surowicy od komórek poprzez odwirowanie, maksymalnie w ciągu 2 godzin od momentu pobrania.

Nie są znane konsekwencje stosowania innych płynów biologicznych.

Świeżą surowicę można przechowywać 4 dni w temperaturze 2-8°C; w przypadku dłuższego przechowywania należy ją zamrozić w temperaturze ≤ -20°C na co najmniej 38 miesięcy. Próbkę 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 zamknięcie zaciskowe), wyjąć wyroby potrzebne do wykonania badań, a pozostałe zachować, zamykając ponownie kopertę 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 wyroby na aparacie CHORUS/CHORUS TRIO. Przeprowadzić kalibrację (jeśli jest wymagana) i test zgodnie z Instrukcją obsługi aparatu.

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 Działem Obsługi Klienta

Tel.: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat CHORUS/CHORUS TRIO podaje wynik w Index (OD próbki/OD cut-off).

Badanie na surowicy można zinterpretować w następujący sposób:

DODATNI: gdy wynik jest > 1,2

UJEMNY: gdy wynik jest $< 0,8$

WĄTPLIWY/NIEJEDNOZNACZNY: gdy wynik jest pomiędzy 0,8 a 1,2

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. SWOISTOŚĆ 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 mg/dl - 45 mg/dl)

Trójglicerydy (10 mg/dl - 250 mg/dl)

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

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

13. REAKCJA KRZYŻOWA

24 próbki dodatnie dla PR-3, MPO, Tg, α -Tg, α -TPO, kardiolipiny, gliadyny, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, czynnik wewnętrzny, tTgG, tTgA i ASCA. Nie wykryto żadnych istotnych reakcji krzyżowych.

14. BADANIA PORÓWNAWCZE

W jednej próbce przeanalizowano 56 próbki za pomocą zestawu Diesse i innego zestawu z handlu.

Poniżej przedstawiono zarys danych eksperymentalnych:

		Oдноśnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Razem	20	36	56

Percent Positive Agreement (~Czułość diagnostyczna):

85.0% CI_{95%}: 63.9- 94.5

Percent Negative Agreement: (~swoistość diagnostyczna):

100.0% CI_{95%}: 90.3- 99.9

Dodatnia wartość predykcyjna (PPV) = 100% CI_{95%}: 100.0

Ujemna wartość predykcyjna (NPV) = 92,3% CI_{95%}: 85,3-100,0

Stopień zgodności pomiędzy obiema metodami jest doskonały, a wartość K (Współczynnik Kappa Cohena) wynosi 0,89.

15. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

Próbka	W ramach sesji		Między sesjami	
	Media Index	CV%	Średnia Index	CV%
1	0.2	25.0*	0.1	-
2	0.4	12.5	0.4	12.5
3	0.5	6.0	0.5	10.0
4	0.8	6.3	0.9	5.6
5	1.1	8.2	1.1	4.5
6	1.3	4.6	1.3	6.2
7	1.5	4.7	1.6	5.6
8	1.8	4.4	1.9	3.7

Próbka	Między partiami		Między przyrządami	
	Media Index	CV%	Średnia Index	CV%
1	0.2	30,0*	0.2	30,0*
2	0.4	-	0.4	-
3	0.6	10.0	0.6	10.0
4	0.8	-	0.8	-
5	1.1	-	1.1	5.5
6	1.3	-	1.3	7,7
7	1.6	-	1.6	6.3
8	1.9	-	1.9	6.3

*Artefakt spowodowany dobrze znanym efektem współczynnika zmienności, który staje się niezwykle wrażliwy na odchylenia (nawet bardzo małe), gdy średnia zbliża się do zera.

16. BIBLIOGRAFIA

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
- Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
- Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
- Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
- Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
- O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
- Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. ZGŁASZANIE INCYDENTÓW

Jeśli w związku z tym wyrobem doszło do poważnego wypadku na terytorium rynkowym Unii Europejskiej, prosimy o niezwłoczne zgłoszenie tego faktu producentowi i właściwemu organowi państwa kraju członkowskiego.



NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS ANA-8

Skirta tik diagnostiniam naudojimui *in vitro*

1. NAUDOJIMO PASKIRTIS

Produktas CHORUS ANA-8 yra imunologinis rinkinys, skirtas automatiniam kokybiniam IgG klasės antikūnų (antikūnų prieš branduolį, ANA), nukreiptų prieš 8 skirtingus ląstelių ir branduolių antigenus (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 ir CenpB), nustatymui.

Kadangi ANA antikūnai plačiai naudojami kaip sisteminės autoimuninės reumatinės ligos serologinis žymuo, rinkinys naudojamas kaip pagalbinė priemonė jai diagnozuoti.

Tyrimą, atliekamą žmogaus serume naudojant vienkartinę priemonę, prijungtą prie CHORUS ir CHORUS TRIO instrumentų gali atlikti tik profesionalūs laboratorijos darbuotojai.

2. ĮVADAS

Diferencinei sisteminių reumatinių ligų diagnostikai lemiamą vaidmenį atlieka serologinis antikūnų prieš branduolius (ANA) nustatymas. Iš pradžių ANA buvo nustatomas naudojant netiesioginį imunofluorescencijos testą (IFT) eukariotinėse ląstelėse, pvz., HeLa ląstelėse. Fluorescencija leidžia atskirti atskirus antikūnus, tačiau nustatant autoantikūnus ELISA testu su atitinkamais specifiniais antigenais, galima lengviau ir patikimiau atskirti ANA pagal jų specifiškumą. ANA antikūnų randama pacientams, sergantiems aktyvia ir neaktyvia sistetine raudonąja vilklige (SLE), mišriu junginės uždegimu (MCTD), sklerodermija, polimiozitu ir kitomis ligomis.

Antikūnai prieš:

- Sm (Smitho antigenas) yra nukreipti prieš mažųjų branduolio ribonukleoproteinų (snRNP) branduolinius baltymus (B, B', D1-D3, E, F, G). Kaip ir antikūnai prieš dvigubą DNR spiralę (dsDNA), antikūnai prieš SM yra labai specifiniai sergant SRV, todėl yra vienas iš SRV diagnozės kriterijų.
- U1snRNP jungiasi prie U1 snRNP 70 kDa baltymo. Jie būdingi mišriam junginės uždegimui, o esant dideliui titrui – Šarpo sindromui.
- snRNP/Sm kompleksas nukreiptas prieš Sm ir snRNP baltymus (70 kDa, A ir C). Jų randama sergant SRV, Sjogreno sindromu, sklerodermija ir polimiozitu.
- SS-A (Ro) ir anti-SS-B (La) antikūnų titrai dažniausiai nustatomi pirminio ir antrinio Sjogreno sindromo atveju, tačiau jų taip pat aptinkama sergant SRV, įgimta širdies blokada ir naujagimių vilklige.

- CenpB (80 kDa centromerinis baltymas B) būdingi CREST sindromui (69 proc. Crest pacientų), kuris yra ne tokia sunki sisteminės sklerodermijos forma.
- Scl-70 yra nukreipti prieš DNR topoizomerazę I. Jie yra labai specifiniai sistemei sklerodermijai ir rodo sunkią patologinę eigą.
- Jo-1 yra nukreiptas prieš histidil-tRNA sintezę (citoplazminį baltymų biosintezės baltymą). Jų randama 20-40 proc. pacientų, sergančių polimiozitu ir dermatomiozitu.

3. METODO PRINCIPAS

CHORUS ANA-8 prietaisas yra paruoštas naudoti IgG antikūnams prieš 8 skirtingus ląstelių ir branduolių antigenus nustatyti „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“ instrumentuose.

Tyrimas pagrįstas ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) principu. Antigenai prisijungia prie kietosios fazės. Po inkubacijos su praskiestu žmogaus serumu, specifiniai imunoglobulinai prisijungia prie antigeno. Po plovimo norint pašalinti nesureagavusius baltymus, inkubuojama su konjugatu, sudarytu iš žmogaus antiimunoglobulino antikūnų, konjuguotų su krienų peroksidaze. Neprisijungęs konjugatas pašalinamas ir pridedama peroksidazės substrato. Išsiskirianti mėlyna spalva yra proporcinga specifinių antikūnų koncentracijai tiriamajame serume.

Vienkartinėse priemonėse yra visi reagentai, reikalingi tyrimui atlikti instrumentuose „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“.

Rezultatai išreiškiami indeksu (OD mėgins / OD riba), apskaičiuotu pagal CDC Atlanta.

4. ATSARGUMO PRIEMONĖS

TIK DIAGNOSTINIAM NAUDOJIMUI *IN VITRO*.

Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės medžiagų, kurios buvo ištirtos ir gautas neigiamas rezultatas atlikus tyrimus ieškant HBsAg ir anti-ŽIV 1, anti-ŽIV 2 bei anti-HCV antikūnų. Kadangi joks diagnostinis tyrimas negali visiškai užtikrinti, kad infekcijos sukėlėjų nėra, bet kokia žmogaus kilmės medžiaga turi būti laikoma potencialiai užkrėsta. Visi reagentai ir mėginiai turi būti tvarkomi laikantis laboratorijoje įprastų saugos taisyklių.

Likučių šalinimas: panaudoti serumo mėginiai, kalibratoriai ir juostelės turi būti laikomi infekuotomis atliekomis ir šalinami pagal taikomus įstatymų nuostatus.

Asmeninės saugos įspėjimai

1. Pipete nelašinkite į burną.
2. Dirbdami su mėginiais mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones.
3. Kruopščiai nusiplaukite rankas po to, kai įdėjote priemones į „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“ instrumentą.
4. Visą saugos informaciją apie rinkinyje esančius reagentus rasite saugos duomenų lape (jį galima rasti DIESSE interneto svetainėje www.diesse.it), kuriame pateikiamos rinkinyje esančių reagentų charakteristikos.
5. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turi būti dezinfekuojamos įpilant natrio hipochlorito tiek, kad galutinė

koncentracija būtų ne mažesnė, kaip 1 %. Veiksmingai dezinfekcijai užtikrinti turėtų pakakti 1 % natrio hipochlorito poveikio 30 minučių.

6. Bet koks galimai užkrėstų medžiagų išsiliejimas turi būti nedelsiant pašalintas sugeriamuoju popieriumi, o prieš tęsiant darbą, užteršta vieta turi būti nukenksmintą, pvz., 1 % natrio hipochloritu. Jei yra rūgštis, natrio hipochlorito negalima naudoti tol, kol vieta neišdžiovinata. Visos medžiagos, naudojamos atsitiktiniams išsiliejimams nukenksminti, įskaitant pirštines, turi būti išmetamos kaip potencialiai užkrečiamos atliekos. Negalima autoklavuoti medžiagų, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito.

Analitiniai įspėjimai

Prieš naudodami, prietaisus palaikykite kambario temperatūroje (18–30 °C) bent 30 minučių ir panaudokite per 60 minučių.

1. Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) nuspalvintas mėlyna spalva.
2. Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
3. Patikrinkite, ar reagentai iš tikrųjų yra prietaise ir ar pats prietaisas yra sveikas. Nenaudokite prietaisų, kurių reagavimo duobutėje vizualiai apžiūrint trūksta reagento ir (arba) yra pašalinių objektų.
4. Priemonės turi būti naudojamos kartu su „Chorus“ / „Chorus TRIO“ instrumentu, griežtai laikantis instrumento naudojimo instrukcijų ir naudotojo vadovo.
Rinkinį galima naudoti tik su atnaujinta programinės įrangos versija. Įsitikinkite, kad prietaise įdiegta programinė įranga yra tokia pati arba jos leidimas („Release, Rel.“) yra aukštesnis nei lentelėje, paskelbtoje „Diesse“ interneto svetainėje (<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
5. Patikrinkite, ar teisingai nustatytas „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“ instrumentas (žr. naudotojo vadovą).
6. Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas jį teisingai nuskaitytų.
7. Mėginiams laikyti nenaudokite automatiškai atitirpstančių šaldiklių.
8. Defektinius brūkšninius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu.
9. Laikydami ir naudodami priemones, saugokite jas nuo stipraus apšvietimo ir hipochlorito garų.
10. Klaida gali atsirasti, jei bus naudojami stipriai hemolizuoti, lipeminiai, ikteriniai, nepilnai koaguluoti serumai arba mikrobais užkrėsti mėginiai.
11. Nenaudokite priemonės pasibaigus galiojimo laikui
12. Įsitikinkite, kad prietaisas prijungtas prie plovimo buferio Autoimmunity REF 86004.

5. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimų atlikti (REF 86010).

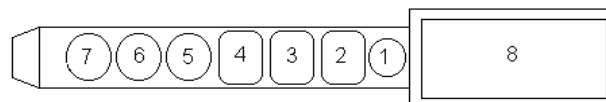
Rinkinio pakanka 12 tyrimų atlikti (REF 86010/12).

DD PRIEMONĖS

6 pakuotės po 6 priemones (REF 86010).

2 pakuotės po 6 priemones (REF 86010/12).

Aprašymas:



8 pozicija: Etiketei su brūkšniniu kodu skirta vieta

7 pozicija: Tuščia

6 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ

Ijautrinta rekombinantinių ir (arba) labai išgrynintų antigenų mišiniu

5 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖS DUOBUTĖ

Nejautri.

4 pozicija: TMB SUBSTRATAS

Turinys: Tetrametilbenzidinas 0,26 mg/ml ir H₂O₂ 0,01 %, stabilizuoti citrato buferiniame tirpale 0,05 mol/l (pH 3,8)

3 pozicija: SKIEDIKLIS MĖGINIAMS

Sudėtis: baltymų druskų tirpalas, kurio sudėtyje yra Proclin (0,1 %)

2 pozicija: KONJUGATAS

Turinys:

peroksidaze žymėti 18-13 monokloniniai žmogaus IgG antikūnai 0,6 µg/ml-0,075 µg/ml fosfatiniame buferiniame tirpale, kuriame yra 0,05 % fenolio ir 0,02 % bronidokso

1 pozicija: TUŠČIA DUOBUTĖ

Čia naudotojas turi išpilstyti neskiestą serumą.

Naudojimas: leiskite maišeliui įšilti iki kambario temperatūros. atidarykite maišelį, išimkite reikiamas priemones; kitas įdėkite į maišelį su silikageliu, išleiskite orą ir užsandarinkite paspausdami užraktą. Laikykite 2/8 °C temperatūroje.

CALIBRATOR KALIBRATORIUS 1 x 0,175 ml

Turinys: Praskiestas žmogaus serumas, kuriame yra IgG antikūnų prieš Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 ir CenpB ir konservantas (Proclin = 0,1 %, Tween-20 = 0,2 %, metiloranžinis = 7,5 µg/ml). Skystas, paruoštas naudoti.

CONTROL+ TEIGIAMAS KONTROLINIS SERUMAS 1 x 0,425 ml

Turinys: Praskiestas žmogaus serumas, kuriame yra IgG antikūnų prieš Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 ir CenpB ir konservantas (Proclin = 0,1 %, Tween-20 = 0,2 %, Metil oranžinis = 7,5 µg/ml). Skystas, paruoštas naudoti.

Kalibratoriaus ir teigiamos kontrolės matavimų patikimumą užtikrina toliau aprašyta atsekamumo grandinė.

Kalibratorius ir teigiamas kontrolinis serumas gaminami iš žinomos koncentracijos žmogaus mėginio, kuriame yra antigenų, praskiestų iki tam tikros koncentracijos, kurios intervalas priklauso nuo partijos ir yra nustatomas kokybės kontrolės išleidimo etape naudojant antrinius kalibratorius („Working calibrator“).

„Working calibrator“ paruošiami ir apibūdinami pagal žmogaus etaloninių serumų, turinčių skirtingus antigenų kiekius, grupę.

KITA REIKALINGA, BET NETIEKIAMA MEDŽIAGA:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Instrumentas „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“
- Distiliuotas arba dejonizuotas vanduo
- Įprasti laboratoriniai stikliniai indai: cilindrai, mėgintuvėliai ir kt.
- Mikropipetės, kuriomis galima tiksliai paimti 50–200 µl tūrio.
- Vienkartinės pirštinės
- 5 % natrio hipochlorito tirpalas
- Talpyklos potencialiai užkrėstoms medžiagoms rinkti

6. REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentai turi būti laikomi 2/8 °C temperatūroje. Neteisingos laikymo temperatūros atveju, kalibravimas turi būti pakartotas, o rezultatų teisingumas patikrintas naudojant kontrolinį serumą (žr. 9 skyrių: Tyrimo patvirtinimas).

Tinkamumo naudoti terminas yra atspausdintas ant kiekvieno komponento ir išorinės pakuotės etiketės.

Atidarius ir (arba) paruošus reagentus, jų stabilumas yra ribotas:

PRIEMONĖS	8 savaitės 2/8 °C temperatūroje
KALIBRATORIUS	8 savaitės 2/8 °C temperatūroje
TEIGIAMAS	8 savaitės 2/8 °C temperatūroje
KONTROLINIS	
SERUMAS	

7. MĖGINIŲ TIPAS IR LAIKYMAS

Mėginio tipas yra serumas, gautas iš kraujo, paimto venos punkcijos būdu, ir tvarkomas pagal standartines laboratorines procedūras.

Pagal CLSI H18-A3 rekomendaciją, prieš centrifuguojant serumo mėginiai turi sukrešėti; savaiminė ir visiška koaguliacija paprastai įvyksta per 30–60 minučių 22–25 °C temperatūroje. Rekomenduojama kuo greičiau fiziškai atskirti serumą nuo ląstelių kontakto centrifuguojant, bet ne ilgiau kaip per 2 valandas nuo surinkimo momento.

Kitų biologinių skysčių naudojimo pasekmės nėra žinomos.

Šviežus serumas gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje; jei norite jį laikyti ilgiau, užšaldykite ≤-20 °C temperatūroje bent 38 mėnesius.

Mėginys gali būti atšildytas ne daugiau, kaip 3 kartus.

Mėginiams laikyti nenaudokite automatiškai atitirpstančių šaldiklių. Atšildytą mėginį prieš dozuodami kruopščiai suplakite. Karščio inaktyvavimas gali duoti klaidingus rezultatus. Mėginio kokybei didelę įtaką gali turėti mikrobinė tarša, dėl kurios rezultatai gali būti klaidingi.

8. PROCEDŪRA

1. Atidarykite maišelį (pusėje, kurioje yra slėginis užraktas), išimkite tyrimams atlikti reikalingą skaičių priemonių, o kitas pasilikite, vėl uždarydami maišelį ir išleidę orą.
2. Vizualiai patikrinkite priemonės būklę pagal 4 skyriuje „Analitiniai įspėjimai“ pateiktus nurodymus.
3. Į kiekvieno prietaiso 1 duobutę įpilkite po 50 µl neskiesto tiriamo serumo; kiekvieną kartą pasikeitus partijai, naudokite kalibravimo prietaisą.
4. Įdėkite priemonės į „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“ instrumentą. Atlikite kalibravimą (jei reikia) ir tyrimą pagal priemonės naudojimo instrukciją.

9. TYRIMO PATVIRTINIMAS

Naudokite teigiamą kontrolinį serumą, kad patikrintumėte gauto rezultato teisingumą, apdorodami jį taip, kaip nurodyta instrumento naudotojo vadove. Jei prietaisas rodo, kad kontrolinio serumo vertė yra už priimtinos ribos, kalibravimas turi būti atliekamas iš naujo. Ankstesni rezultatai bus pataisyti automatiškai.

Jei kontrolinio serumo rezultatas ir toliau neatitinka leistino intervalo, kreipkitės į klientų aptarnavimą

Tel.: 0039 0577 319554
el. scientificsupport@diesse.it
paštas: customercare@diesse.it

10. TYRIMO AIŠKINIMAS

Instrumentas „CHORUS“ / „CHORUS TRIO“ pateikia rezultatą indekse (OD mėginys / OD riba).

Tiriamo serumo tyrimą galima aiškinti taip:

TEIGIAMAS: kai rezultatas > 1,2
NEIGIAMAS: kai rezultatas yra < 0,8
ABEJOTINAS / NEAIŠKUS: kai rezultatas yra nuo 0,8 iki 1,2

Jei rezultatas abejotinas / neaiškus, pakartokite tyrimą. Jei rezultatas abejotinas / neaiškus, pakartokite mėginių ėmimą.

11. TYRIMO APRIBOJIMAI

Visas gautas vertes reikia atidžiai išaiškinti, neatsižvelgiant į kitus su tuo pačiu pacientu susijusius rodiklius.

Tyrimas negali būti naudojamas vien tik klinicinei diagnozei nustatyti, todėl tyrimo rezultatas turi būti vertinamas kartu su paciento anamnezės ir (arba) kitų diagnostinių tyrimų duomenimis.

12. ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS

Ištirti 5 mėginiai (2 neigiami, 1 ribinis ir 2 teigiami), į kuriuos pridėta šių trukdžių:

Reumatoidinis faktorius (44-220 TV/ml)
Bilirubinas (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Trigliceridai (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobinas (5 mg/ml – 30 mg/ml)

Jei tiriamajame serume yra pirmiau minėtų interferencinių medžiagų, tyrimo rezultatas nesikeičia.

13. KRYŽMINĖS REAKCIJOS

Buvo ištirti 24 mėginiai, teigiami PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, kardioplipinui, gliadinui, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, vidiniam faktoriui, tTgG, tTgA ir ASCA. Reikšmingų kryžminių reakcijų nenustatyta.

14. LYGINAMIEJI TYRIMAI

Vieno bandymo metu 56 mėginiai buvo ištirti naudojant „Diesse“ rinkinį ir kitą komercinį rinkinį. Toliau pateikiami eksperimento rezultatai:

		Nuoroda		
		+	-	Iš viso
Diesse	+	17	0	17
	-	3	36	39
	Iš viso	20	36	56

Percent Positive Agreement (~ diagnostinis jautrumas):

85,0 % CI₉₅ %: 63,9- 94,5

Percent Negative Agreement: (~ diagnostinis specifiškumas):

100,0 % CI₉₅ %: 90,3- 99,9

Teigiama prognostinė vertė (PPV) =100 % CI₉₅ %: 100,0

Neigiama prognostinė vertė (NPV) =92,3 % CI₉₅ %:85,3-100,0

Abiejų metodų sutapimo laipsnis yra optimalus

– K (Koheno konstantos) reikšmė yra 0,89.

15. TIKSLUMAS IR PAKARTOJAMUMAS

Pavyzdys	Sesijos metu		Tarp sesijų	
	Vidutinis indeksas	CV%	Vidutinis Indeksas	CV%
1	0,2	25,0*	0,1	-
2	0,4	12,5	0,4	12,5
3	0,5	6,0	0,5	10,0
4	0,8	6,3	0,9	5,6
5	1,1	8,2	1,1	4,5
6	1,3	4,6	1,3	6,2
7	1,5	4,7	1,6	5,6
8	1,8	4,4	1,9	3,7

Pavyzdys	Tarp partijų		Tarp instrumentų	
	Vidutinis indeksas	CV%	Vidutinis Indeksas	CV%
1	0,2	30,0*	0,2	30,0*
2	0,4	-	0,4	-
3	0,6	10,0	0,6	10,0
4	0,8	-	0,8	-
5	1,1	-	1,1	5,5
6	1,3	-	1,3	7,7
7	1,6	-	1,6	6,3
8	1,9	-	1,9	6,3

*Artefaktas dėl žinomo koeficiento kitimo poveikio, kuris tampa labai jautrus pokyčiams (net ir labai mažiems), kai vidutinė vertė yra artima nuliui.

16. BIBLIOGRAFIJA

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
2. Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
3. Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
4. Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
5. Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
7. O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
8. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. PRANEŠIMAS APIE INCIDENTUS

Jei Europos Sąjungos rinkos teritorijoje įvyko rimtas nelaimingas atsitikimas, susijęs su šia priemone, nedelsdami praneškite apie tai gamintojui ir savo valstybės narės kompetentingai institucijai.



ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

CHORUS ANA-8

Само за диагностична употреба *in vitro*

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНО ИЗПОЛЗВАНЕ

продуктът CHORUS ANA-8 е имунологичен комплект за автоматично качествено определяне на антитела от клас IgG (антиядрени антитела, ANA) към 8 различни клетъчни и ядрени антигени (Sm, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 и CенрВ).

Тъй като антителата ANA се използват широко като серологичен маркер за системно автоимунно ревматично заболяване, комплектът се използва като помощно средство за неговото диагностициране.

Тестът, който се извършва в човешки серум с помощта на изделие за еднократна употреба, прикрепено към инструментите CHORUS и CHORUS TRIO, трябва да се използва само от професионален лабораторен персонал.

2. ВЪВЕДЕНИЕ

За диференциалната диагноза на системните ревматични заболявания серологичното определяне на антиядрените антитела (ANA) играе решаваща роля. Първоначално определянето на ANA се извършваше чрез индиректен имунофлуоресцентен тест (IFT) върху еукариотни клетки, например клетки HeLa. Флуоресценцията позволява да се разграничат отделните антитела, но определянето на автоантителата в теста ELISA със съответните специфични антигени позволява по-лесно и по-надеждно разграничаване на ANA според тяхната специфичност. ANA антителата се откриват при пациенти с активен и неактивен системен лупус еритематозус (СЛЕ), смесен конюнктивит (MCTD), склеродермия, полимиозит и други заболявания.

Антителата анти-:

- Sm (Смит антиген) са насочени срещу ядрените протеини (B, B', D1-D3, E, F, G) на малките ядрени рибонуклеопротеини (snRNPs). Подобно на антителата срещу двойната спирала на ДНК (dsDNA), анти-Sm са високоспецифични за СЛЕ и следователно са един от критериите за диагностициране на СЛЕ.
- U1snRNP се свързват със 70 kDa протеин на U1 snRNP. Те са характерни за смесен конюнктивит и, при високи титри, за синдрома на Шарп.
- snRNP/Sm комплекс са насочени срещу Sm и snRNP протеини (70 kDa, A и C). Те се срещат при СЛЕ, синдрома на Съогрен, склеродермия и полимиозит.
- SS-A (Ro) и анти-SS-B (La) антителата се откриват във високи титри главно при първичен и вторичен синдром на Съогрен, но се срещат и при СЛЕ, вроден сърдечен блок и неонатален лупус.

- CенрВ (80 kDa центромерен протеин В) са характерни за синдрома CREST (69% от пациентите с Crest), който е пол-лека форма на системната склеродермия.
- Scl-70 са насочени срещу ДНК-топоизомераза I. Те са силно специфични за системната склеродермия и показват тежко патологично протичане.
- Jo-1 са насочени срещу хистидил-тРНК синтетаза (цитоплазмен протеин за биосинтеза на протеини). Те се срещат при 20 – 40% от пациентите с полимиозит и дерматомиозит.

3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Изделието CHORUS ANA-8 е готово за използване за определяне на антитела IgG към 8 различни клетъчни и ядрени антигени в инструментите CHORUS/CHORUS TRIO. Тестът се основава на принципа на ELISA (ензимно свързан имуносорбентен анализ). Антигените се свързват с твърдата фаза. Специфичните имуноглобулини се свързват с антигена след инкубация с разреден човешки серум. След промиване за отстраняване на нереагиралите протеини се извършва инкубация с конюгат, състоящ се от антитела към конюгирани с хрян пероксидаза човешки имуноглобулини. Несвързаният конюгат се отстранява и се добавя субстрат за пероксидазата. Оцветяването, което се получава, е пропорционално на концентрацията на специфичните антитела в изследвания серум.

Устройствата за еднократна употреба съдържат всички реактиви за тестване в инструментите CHORUS/CHORUS TRIO.

Резултатите се изразяват в индекс (OD на пробата/OD отсечка), изчислен спрямо CDC Atlanta.

4. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

САМО ЗА ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА *IN VITRO*.

Този комплект съдържа материали от човешки произход, които са тествани и са отрицателни с тест както за HBsAg, така и за анти-HIV-1, анти-HIV-2 и анти-HCV антитела. Тъй като никой диагностичен тест не може да даде пълна гаранция за отсъствието на инфекциозни агенти, всеки материал от човешки произход трябва да се счита за потенциално заразен. С всички реактиви и проби трябва да се борави в съответствие с правилата за безопасност, приети в лабораторията.

Изхвърляне на остатъци: използваните серумни проби, калибратори и ленти трябва да се третират като инфектирани остатъци, след което да се изхвърлят в съответствие с разпоредбите.

Предупреждения за лична безопасност

1. Не пипетирайте с уста.
2. Използвайте ръкавици за еднократна употреба и защита на очите при работа с пробите.
3. Измийте добре ръцете си, след като поставите устройствата в уреда CHORUS/CHORUS TRIO.
4. Моля, вижте информационния лист за безопасност (достъпен на уебсайта на DIESSE: www.diesse.it) за цялата информация относно безопасността на реагентите, съдържащи се в комплекта).

5. Неутрализираните киселини и други течни отпадъци трябва да се дезинфекцират чрез добавяне на натриев хипохлорит в достатъчен обем, за да се постигне крайна концентрация от поне 1 %. Излагането на 1% натриев хипохлорит в продължение на 30 минути трябва да е достатъчно, за да се осигури ефективна дезинфекция.
6. Всеки разлив на потенциално инфектирани материали трябва да се отстрани незабавно с абсорбираща хартия, а замърсената зона трябва да се дезинфектира, напр. с 1% натриев хипохлорит, преди да се продължи работата. Ако има киселина, натриевият хипохлорит не трябва да се използва, докато зоната не бъде изсушена. Всички материали, използвани за обеззаразяване на случайни разливи, включително ръкавици, трябва да се изхвърлят като потенциално инфекциозен отпадък. Не използвайте автоклав за материали, съдържащи натриев хипохлорит.

Аналитични предупреждения

Преди употреба поставете изделията, които ще използвате, на стайна температура (18 – 30°C) за поне 30 минути и ги използвайте в рамките на 60 минути.

1. **Изхвърлете устройствата със субстрат (ямка 4), оцветен в синьо.**
2. Когато добавяте пробата в ямката, проверете дали тя е напълно разпределена на дъното.
3. Проверете действителното наличие на реагентите в изделието и целостта на самото изделие. Не използвайте устройства, които при визуална проверка показват липса на реагент и/или чужди тела в ямката на реагента.
4. Изделията трябва да се използват заедно с инструмента CHORUS/CHORUS TRIO, като се спазва стриктно инструкциите за употреба и Ръководството за потребителя на инструмента.
Използването на комплекта е възможно само с актуализирана версия на софтуера. Уверете се, че софтуерът, инсталиран на инструмента, е същият или има версия (Rel.), по-висока от тази, посочена в таблицата, публикувана на уебсайта на Diesse (<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
5. Проверете дали инструментът CHORUS/CHORUS TRIO е правилно настроен (вж. Ръководството за потребителя).
6. Не променяйте баркода върху дръжката на устройството, за да може той да бъде прочетен правилно от инструмента.
7. Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризери за съхранение на проби.
8. Дефектните баркодове могат да бъдат въведени ръчно в инструмента (вж. Ръководството за потребителя).
9. Не излагайте устройствата на силна светлина или хипохлоритни пари по време на съхранение и употреба.
10. Не използвайте хемолизирани, липемични, иктеризирани проби с по-висока концентрация на интерференти от тестваната (съгласно указанията в глава "Аналитична специфичност")
11. Не използвайте устройството след изтичане на срока на годност

12. Уверете се, че инструментът е свързан към Промивен буфер Автоимунитет (РЕФ. 86004.)

5. СЪСТАВ НА КОМПЛЕКТА И ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТ

Комплектът е достатъчен за 36 определяния (РЕФ. 86010).

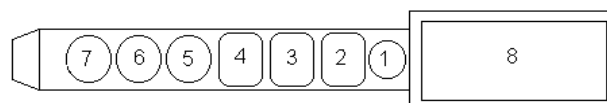
Комплектът е достатъчен за 12 определяния (РЕФ. 86010/12).

DD ИЗДЕЛИЯ

6 опаковки от по 6 изделия във всяка (РЕФ. 86010).

2 опаковки от по 6 изделия във всяка (РЕФ. 86010/12).

Описание:



Позиция 8: Свободно място за етикет с баркод

Позиция 7: Празен

Позиция 6: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА

Сенсибилизирани със смес от рекомбинантни и/или високо пречистени антигени

Позиция 5: ЯМКА ЗА МИКРОПЛАКА

Не е сенсибилизиран.

Позиция 4: ТМВ СУБСТРАТ

Съдържание: Тетраметилбензидин 0,26 mg/ml и H₂O₂ 0.01%, стабилизирани в цитратен буфер 0,05 mol/L (pH 3,8)

Позиция 3: РАЗРЕДИТЕЛ ЗА ПРОБИ

Съдържание: разтвор на протеинови соли, съдържащ Проклин (0,1%)

Позиция 2: КОНЮГАТ

Съдържание:

човешки моноклонални 18-13 анти-IgG антитела 0,6 µg/ml-0,075 µg/ml, маркирани с пероксидаза, във фосфатнобуфериран разтвор, съдържащ Фенол 0,05% и Бронидокс 0,02%

Позиция 1: ПРАЗЕН РЕЗЕРВОАР

Където потребителят трябва да дозира неразредения серум.

Употреба: уравновесете плика до стайна температура,

отворете плика, извадете необходимите устройства; поставете останалите в плика, съдържащ силикагел, изпуснете въздуха и **запечатайте**, като натиснете затварянето. Съхранявайте при 2/8°C.

КАЛИБРАТОР КАЛИБРАТОР 1 x 0,175 ml

Съдържание: Разреден човешки серум, съдържащ IgG анти-Sm антитела, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 и CenpB и консервант (Проклин = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, Метилоранж = 7,5 µg/ml). Течен, готов за употреба.

КОНТРОЛ + ПОЛОЖИТЕЛНА КОНТРОЛА 1 x 0,425 ml

Съдържание: Разреден човешки серум, съдържащ IgG анти-Sm антитела, U1-snRNP, SS-A, SS-B, snRNP/Sm, Scl-70, Jo-1 и CenpB и консервант (Проклин = 0,1%, Tween-20 = 0,2%, Метилоранж = 7,5 µg/ml). Течен, готов за употреба.

Надеждността на измерванията на калибратора и на положителната контрола се гарантира от веригата за проследяване, описана по-долу.

Калибраторът и положителната контрола се произвеждат от човешка проба с известна концентрация на антигени, разреждана до достигане на специфична концентрация, чийто диапазон зависи от партидата и се определя по време на фазата на освобождаване от контрола на качеството с помощта на серия от вторични калибратори („Working calibrator“).

Работните калибратори се подготвят и характеризират в съответствие с панел от човешки референтни серуми с различни нива на антигени.

ДРУГИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО СЕ ИЗИСКВАТ, НО НЕ СА ПРЕДВИДЕНИ:

- ПРОМИВЕН БУФЕР АВТОИМУНИТЕТ [РЕФ.] 86004
- ПОЧИСТВАЩ РАЗТВОР 2000 [РЕФ.] 83609
- ДЕЗИНФЕКЦИРАЩ РАЗТВОР С [РЕФЕРЕНТЕН НОМЕР] 83604 – 83608
- ХОР ОТРИЦАТЕЛНА КОНТРОЛА/РАЗРЕДИТЕЛ ЗА ПРОБИ [РЕФ. НОМЕР] 83607
- Инструмент CHORUS/CHORUS TRIO
- Дестилирана или дейонизирана вода
- Обикновена лабораторна съклария: цилиндри, епруветки и др.
- Микропипети, които могат точно да вземат обеми от 50-200 µl.
- Ръкавици за еднократна употреба
- 5% разтвор на натриев хипохлорит
- Контейнери за събиране на потенциално заразени материали

6. СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАКТИВИТЕ

Реагентите трябва да се съхраняват при температура 2/8°C. В случай на неправилна температура на съхранение калибрирането трябва да се повтори и да се провери правилността на резултата с помощта на контролен серум (вж. глава 9: Валидиране на теста).

Датата на изтичане на срока на годност е отпечатана върху всеки компонент и върху етикета на външната опаковка.

Реагентите са с ограничена стабилност след отваряне и/или приготвяне:

УСТРОЙСТВА	8 седмици при 2/8°C
КАЛИБРАТОР	8 седмици при 2/8°C
ПОЛОЖИТЕЛЕН	8 седмици при 2/8°C
КОНТРОЛ	

7. ТИП ПРОБИ И СЪХРАНЕНИЕ

Видът на пробата е серум, получен от кръв, взета чрез обикновена венепункция, и обработена съгласно стандартните лабораторни процедури.

Съгласно насоките CLSI H18-A3, серумните проби за анализ трябва да бъдат коагулирани преди центрофугирането; спонтанната и пълна коагулация обикновено настъпва в рамките на 30 – 60 минути при 22°C – 25°C. Препоръчва се серумът да се отдели физически чрез центрофугиране от

контакта с клетките възможно най-скоро, като максималният срок е 2 часа от момента на пробовземането.

Последиците от използването на други биологични течности не са известни.

Пресният серум може да се съхранява в продължение на 4 дни при 2/8°C; за по-дълъг период на съхранение замразете при температура ≤ -20°C за най-малко 38 месеца.

Пробата може да бъде подложена на максимум 3 размразявания.

Избягвайте използването на саморазмразяващи се фризери за съхранение на проби. След размразяването разклатете внимателно пробата, преди да я дозирате.

Топлинната инактивация може да доведе до грешни резултати. Качеството на пробата може да бъде сериозно засегнато от микробно замърсяване, което може да доведе до грешни резултати.

8. ПРОЦЕДУРА

1. Отворете плика (страната, съдържаща уплътнението под налягане), извадете необходимия брой устройства за извършване на изследванията и запазете останалите, като затворите плика отново, след като изпуснете въздуха.
2. Визуално проверете състоянието на изделието съгласно инструкциите в глава 4 Аналитични предупреждения.
3. Дозирайте 50 µl неразреден серум, който ще се анализира, в ямка № 1 на всяко изделие; при всяка смяна на партидата използвайте изделие като калибратор.
4. Въведете устройствата на инструмента CHORUS/CHORUS TRIO. Извършете калибриране (ако е необходимо) и тест, както е описано в ръководството за употреба на инструмента.

9. ВАЛИДИРАНЕ НА ТЕСТА

Използвайте серума от положителната контрола, за да проверите правилността на получения резултат, като я обработите, както е посочено в ръководството за потребителя на инструмента. Ако уредът покаже, че контролен серум има стойност извън допустимата граница, калибрирането трябва да се извърши отново. Предишните резултати ще бъдат коригирани автоматично.

Ако резултатът от контролния серум продължава да е извън допустимия диапазон, свържете се с отдела за обслужване на клиенти.

Тел: 0039 0577 319554

имейл: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. ТЪЛКУВАНЕ НА ТЕСТА

Инструментът CHORUS/CHORUS TRIO предоставя резултата в индекс (OD проба/OD отсечка).

Тестът на тестовия серум може да се интерпретира по следния начин:

ПОЛОЖИТЕЛЕН: когато резултатът е > 1,2

ОТРИЦАТЕЛЕН: когато резултатът е < 0,8

СЪМНИТЕЛЕН/НЕЕДНОЗНАЧЕН: когато резултатът е между 0,8 и 1,2

В случай на съмнителен/неоднозначен резултат повторете теста. Ако резултатът остане съмнителен/неоднозначен, повторете вземането на пробата.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

Всички получени стойности се нуждаят от внимателно тълкуване, без да се пренебрегват други показатели, свързани със същия пациент.

Тестът не може да се използва самостоятелно за поставяне на клинична диагноза и резултатът от него трябва да се оценява заедно с данните от анамнезата на пациента и/или други диагностични изследвания.

12. АНАЛИТИЧНА СПЕЦИФИЧНОСТ

Бяха изследвани 5 проби (2 отрицателни, 1 отрязана и 2 положителни), към които бяха добавени следните интерференти:

Ревматоиден фактор (44-220 UI/ml)
Билирубин (4,5 mg/dl - 45mg/dl)
Триглицериди (10 mg/ml - 250 mg/ml)
Хемоглобин (5 mg/ml - 30 mg/ml)

Наличието на горепосочените интерфериращи вещества в тестовия серум не променя резултата от теста.

13. КРЪСТОСАНИ РЕАКЦИИ

Бяха изследвани 24 проби, положителни за PR-3, MPO, Tg, a-Tg, a-TPO, кардиолипин, глиадин, AMA-M2, SS-A, SS-B, Sm, Jo-1, RF-G, RF-M, GBM, RA-CP, интринзичен фактор, tTgG, tTgA и ASCA.

Не са открити значителни кръстосани реакции.

14. СРАВНИТЕЛНИ ПРОУЧВАНИЯ

При едно изпитване 56 проби бяха анализирани с комплект Diesse и друг комплект от търговската мрежа

По-долу са описани експерименталните данни:

		Справка		
		+	-	Общо
	+	17	0	17
Diesse	-	3	36	39
	Общо	20	36	56

Процентно положително съгласие (~диагностична чувствителност):

85,0% CI_{95%}: 63,9 – 94,5

Процентно отрицателно съгласие: (~диагностична специфичност): 100,0% CI_{95%}: 90,3 – 99,9

Положителна предикативна стойност (PPV) 100% CI_{95%}: 100,0

Отрицателна предикативна стойност (NPV) =92,3% CI_{95%}:85,3-100,0

Степента на съответствие между двата метода е отлична със стойност на К (коефициент на Коен) от 0,89.

15. ПРЕЦИЗНОСТ И ПОВТОРЯЕМОСТ

Проба	В рамките на сесията		Между сесиите	
	Среден Индекс	CV%	Среден Индекс	CV%

1	0,2	25,0*	0,1	-
2	0,4	12,5	0,4	12,5
3	0,5	6,0	0,5	10,0
4	0,8	6,3	0,9	5,6
5	1,1	8,2	1,1	4,5
6	1,3	4,6	1,3	6,2
7	1,5	4,7	1,6	5,6
8	1,8	4,4	1,9	3,7

Проба	Между партидите		Между инструментите	
	Среден Индекс	CV%	Среден Индекс	CV%
1	0,2	30,0*	0,2	30,0*
2	0,4	-	0,4	-
3	0,6	10,0	0,6	10,0
4	0,8	-	0,8	-
5	1,1	-	1,1	5,5
6	1,3	-	1,3	7,7
7	1,6	-	1,6	6,3
8	1,9	-	1,9	6,3

*Артефакт, дължащ се на известния ефект на вариационния коефициент, който става изключително чувствителен към вариации (дори много малки), когато средната стойност е близка до нула.

16. БИБЛИОГРАФИЯ

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996) Sciences B.V., Amsterdam.
- Froelich C.H., Wallmann H., Skosey J.I., Teodorescu M. (1990) J. Rheumatology 17: 192.
- Mierau R., Genth E. (1998). In: Thomas L. Labor und Diagnose. TH-Books, Frankfurt, 15. Auflage: 843-851.
- Schmolke M., Oppermann M., Helmke K., Guder WG (2000) Poster P59, 5th Dresden Symposium on Autoantibodies.
- Tan EM (1989). Adv. Immunol. 44: 93-151.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38
- O'Sullivan M, McLean-Tooke A, Loh RK. Antinuclear antibody test. Aust Fam Physician. 2013 Oct;42(10):718-21. PMID: 24130974.
- Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. Rheumatology (Oxford). 2003 Apr;42(4):534-40. doi: 10.1093/rheumatology/keg170. PMID: 12649400.

17. ДОКЛАДВАНЕ НА ИНЦИДЕНТИ

Ако на територията на Европейския съюз е възникнал сериозен инцидент, свързан с това устройство, моля, незабавно съобщете за това на производителя и на компетентния орган на вашата държава членка.

	IT	Data di fabbricazione	ES	Fecha de fabricación
	EN	Date of manufacture	FR	Date de fabrication
	CS	Datum výroby	PT	Data de fabrico
	EL	Ημερομηνία κατασκευής	RO	Data fabricației
	PL	Data produkcji	LT	Pagaminimo data
	BG	Дата на производство		
	IT	Utilizzare entro	ES	Utilizar antes de
	EN	Use By	FR	Utilisation d'ici
	CZ	Použít do	PT	Utilizar até
	EL	Χρήση εντός	RO	A se utiliza până la data de
	PL	Data minimalnej trwałości	LT	Sunaudoti per
	BG	Използване в рамките на		
	IT	Non riutilizzare	ES	No reutilizar
	EN	Do not reuse	FR	Ne pas réutiliser
	CS	Nepoužívejte opakovaně	PT	Não reutilizar
	EL	Μην επαναχρησιμοποιείτε	RU	Nu reutilizați
	PL	Nie używać ponownie	LT	Nenaudoti pakartotinai
	BG	Не използвайте повторно		
	IT	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES	Atención, véanse las instrucciones de uso
	EN	Caution, consult accompanying documents	FR	Attention, voir le mode d'emploi
	CS	Pozor, nahlédněte do průvodních dokumentů	PT	Atenção, ver instruções de utilização
	EL	Προσοχή, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης	RO	Atenție, consultați instrucțiunile de utilizare
	PL	Uwaga, patrz instrukcja obsługi	LT	Dėmesio, žr. naudojimo instrukciją
	BG	Внимание, вижте инструкциите за употреба		
	IT	Fabbricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	CS	Výrobce	PT	Fabricante
	EL	Κατασκευαστής	RO	Producător
	PL	Producent	LT	Gamintojas
	BG	Производител		
	IT	Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES	Contenido suficiente para "n" ensayos
	EN	Contains sufficient for <n> tests	FR	Contenu suffisant pour « n » essais
	CS	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů	PT	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EL	Επαρκές περιεχόμενο για "n" δοκιμές	RO	Conținut suficient pentru „n” teste
	PL	Zawiera wystarczającą ilość do „n” próbek	LT	Turinio pakanka „n” tyrimų
	BG	Достатъчно съдържание за "n" есета		
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límites de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	CS	Teplotní omezení	PT	Limites de temperatura
	EL	Όρια θερμοκρασίας	RU	Limite de temperatură
	PL	Wartości graniczne temperatury	LT	Temperatūros ribos
	BG	Температурни граници		
	IT	Consultare le istruzioni per l'uso	ES	Consulte las instrucciones de uso
	EN	Consult Instructions for Use	FR	Voir le mode d'emploi
	CS	Přečtěte si návod k použití	PT	Ver instruções de utilização
	EL	Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης	RO	Consultați instrucțiunile de utilizare
	PL	Patrz instrukcja obsługi	LT	Žr. naudojimo instrukcijas
	BG	Вижте инструкциите за употреба		
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risque biologique
	CS	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	EL	Βιολογικός κίνδυνος	RO	Risc biologic
	PL	Zagrożenie biologiczne	LT	Biologinis pavojus
	BG	Биологичен риск		
	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Numéro de catalogue
	CS	Katalogové číslo	PT	Número de catálogo
	EL	Αριθμός καταλόγου	RO	Număr de catalog
	PL	Numer katalogowy	LT	Katalogo numeris
	BG	Каталожен номер		
	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CS	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EL	In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή	RO	Dispozitiv medical pentru diagnosticare in vitro

LOT	PL	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro	LT	In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	BG	Диагностично медицинско изделие ин витро		
	IT	Codice del lotto	ES	Código de lote
	EN	Batch code	FR	Codice del lotto
	CS	Kód šarže	PT	Código do lote
	EL	Κωδικός παρτίδας	RU	Cod lot
	PL	Kod partii	LT	Partijos koda
CE 123	BG	Код на партидата		
	IT	Marchatura CE di conformità	ES	Marcação de conformidade CE
	EN	CE marking of conformity	FR	Marquage de conformité CE
	CS	Označení shody CE	PT	Marcação CE de conformidade
	EL	Σήμανση συμμόρφωσης CE	RO	Marcajul de conformitate CE
	PL	Oznaczenie zgodności CE	LT	EB atitikties ženklas
	BG	Маркировка за съответствие CE		