

CHORUS

RF-M

REF 86040

REF 86040/12



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





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS RF-M

Per la determinazione quantitativa dei Fattori Reumatoidi IgM

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa dei Fattori Reumatoidi IgM nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

I fattori reumatoidi, descritti per prima nel 1940 come anticorpi reagenti con le gammaglobuline, sono degli autoanticorpi diretti verso la parte C-terminale della regione costante della catena pesante delle IgG, cioè le IgG Fc.

Sebbene il nome deriva dalla malattia alla quale venivano inizialmente associati, i RF si possono trovare sia nella popolazione sana che in diverse situazioni patologiche. Le malattie frequentemente associate ad alte concentrazioni di RF sono l'artrite reumatoide (50-90%) e la sindrome di Sjögren (75-95%). Essi sono presenti anche nel lupus sistemico eritematoso (SLE; 15-35%), sclerosi sistemica (20-30%), polimiositosi/dermomiotosi (5-10%), crioglobulinemia (40-100%) e nelle malattie del tessuto connettivale (MCTD; 50-60%).

Sebbene la presenza nel siero delle IgM anti-RF è stata considerata il marker sierologico più importante per l'RA, ed è quindi inclusa nella lista ACR dei criteri per la diagnosi di questa malattia, i RFF delle sottoclassi IgG ed IgA sono altrettanto importanti per la diagnosi.

La determinazione di questi isotipi fornisce ulteriori informazioni relative alla diagnosi, la diagnosi differenziale ed il monitoraggio dell'RA in confronto alle tecniche tradizionali quali l'agglutinazione al lattice e la nefelometria. Mentre l'RF della sottoclasse IgM sono più sensibile per la diagnosi dell'RA e quindi più adatto allo screening, l'RF della sottoclasse IgG sono maggiormente specifici per l'RA e, come la sottoclasse IgA, correlate ai parametri clinici ed alla attività patologica. La presenza di tutte e tre le sottoclassi è specifica al 100% per l'RA.

I RF nel SLE sono associati alla sindrome secca, all'ipergammaglobulinemia, ad un alto titolo di anticorpi anti-nucleari, all'anemia e generalmente all'apparenza di anticorpi SS-A e SS-B. Tutte e 3 le sottoclassi si trovano nell'SLE. In particolare la sottoclasse IgA definisce un sottogruppo di

pazienti affetti da SLE caratterizzati da fenomeni autoimmuni distinti ed una forte attività patologica in assenza di nefrite.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus RF-M è pronto all'uso per la determinazione dei Fattori Reumatoidi IgM, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

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

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

I risultati sono espressi in Unità Internazionali (IU/ml).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati dall'FDA sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus/Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere

decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86040).

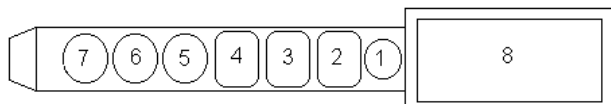
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86040/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86040).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86040/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con immunoglobuline IgG umane purificate

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%)

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente Fattore Reumatoide IgM e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente Fattore Reumatoide IgM e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

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

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero non diluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Unità Internazionali (IU/ml) (WHO International Standard), calcolate

in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO: quando il risultato è > 18 IU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 12 IU/ml

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

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0 – 300 IU/ml.

Per campioni > 300 IU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I valori attesi nella popolazione normale, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, erano compresi fra 3.0 e 10.1 IU/ml.

14. SPECIFICITA' ANALITICA

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

Bilirubina (4.5 mg/dl – 18 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 150 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.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 140 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Totale	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 96.7-100

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.97.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

17. BIBLIOGRAFIA

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS RF-M

For the quantitative determination of IgM Rheumatoid Factors

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the quantitative determination of IgM Rheumatoid Factors in human serum, using a disposable device applied on the chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Rheumatoid factors (RF), first described in 1940 as antibodies reacting with gamma globulins, are autoantibodies directed against the C-terminal part of the constant region of the IgG heavy chain, the IgG Fc.

Although named after the disease they were initially associated with, RFs are found both in the healthy population and several diseases. The diseases commonly associated with high RF concentrations are rheumatoid arthritis (RA; 50-90%) and Sjögren's syndrome (75-95%). They are also found in systemic lupus erythematosus (SLE; 15-35%), systemic sclerosis (20-30%) polymyositis/dermatomyositis (5/10%), cryoglobulinemia (40-100%) and mixed connective tissue diseases (MCTD; 50-60%).

Although the presence of IgM RF in the serum has been regarded as the most important serological indicator for RA, thus included in the ACR list of criteria for the diagnosis of this disease, RF of IgG and IgA subclass are important for diagnosis as well.

Determination of these isotypes provides additional information with regard to diagnosis, differential diagnosis and follow-up of RA in comparison to conventional techniques such as latex agglutination test and nephelometry. Whilst RF of subclass IgM are most sensitive for diagnosis of RA, thus most suitable for screening, RF of subclass IgG are most specific for RA and like subclass IgA correlate with clinical parameters and disease activity. The presence of all three subclasses is 100% specific for RA.

RF in SLE are associated with sicca syndrome, hypergammaglobulinemia, high titer of anti-nuclear antibodies, anemia and usually SS-A and SS-B antibodies appearance. All three subclasses are found in SLE. Especially the subclass IgA defines a subgroup of SLE patients characterized by distinct autoimmune phenomena and high disease activity in the absence of nephritis.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus RF-M device is ready to use for the detection of IgM Rheumatoid Factors in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

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

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

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

The results are expressed in International Units (IU/ml).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

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

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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86040).

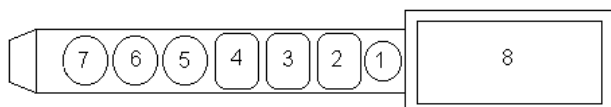
The kit is sufficient for 12 tests. (REF 86040/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86040).

2 packages each containing 6 devices (REF 86040/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with human IgG purified immunoglobulins

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: proteic solution, saline, with Proclin (0.1%)

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

in which undiluted serum must be added

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM Rheumatoid Factors and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM Rheumatoid Factors and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED:

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in International Units (IU/ml) (WHO International Standard), calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

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

POSITIVE: when the result is > 18 IU/ml

NEGATIVE: when the result is < 12 IU/ml

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 12 and 18 IU/ml

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0 - 300 IU/ml.

For samples > 300 IU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - not supplied with the kit).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, were between 3.0 and 10.1 IU/ml.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

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

Bilirubin (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Triglycerides (10 mg/dl - 150 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.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 140 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Total	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100% CI_{95%}: 96.7-100

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.97.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

17. REFERENCES

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000). Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS RF-M

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των Ρευματοειδών Παραγόντων IgM

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό των Ρευματοειδών Παραγόντων IgM στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ρευματοειδείς παράγοντες, που περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1940, ως αντισώματα που αντιδρούσαν με τις γ-αιμοσφαιρίνες, είναι αυτοαντισώματα που κατευθύνονται εναντίον του τομέα C-τελικό της σταθερής περιοχής της βαριάς αλυσίδας των IgG, δηλαδή οι IgG Fc.

Αν και το όνομα προέρχεται από την νόσο, με την οποίαν αρχικά συνδυάζονταν, οι ΡΠ μπορούν να ανιχνευθούν τόσο στον υγιή πληθυσμό όσο και σε διάφορες παθολογίες. Οι παθήσεις στις οποίες ανιχνεύεται πιο συχνά μία υψηλή συγκέντρωση ΡΠ είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα (50-90%) και το Σύνδρομο Sjögren (75-95%). Οι ΡΠ ανιχνεύονται επίσης και στον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ 15-35%), στην συστηματική σκλήρυνση (20-30%), στην πολυμυοσίτιδα/δερματομυοσίτιδα (5-10%), στην κρουσφαιριναιμία (40-100%) και στις παθολογίες του συνδετικού ιστού (MCTD; 50-60%).

Αν και η παρουσία στον ορό των IgM αντι-ΡΠ θεωρήθηκε ως ο πιο σημαντικός ορολογικός δείκτης (marker) για την ΡΑ και ως εκ τούτου περιλαμβάνεται στον κατάλογο ACR των κριτηρίων για τη διάγνωση αυτής της νόσου, οι ΡΠ των υπο-ομάδων IgG και IgA είναι το ίδιο σημαντικές για τη διάγνωση.

Ο προσδιορισμός αυτών των ισοτύπων παρέχει περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη διάγνωση, τη διαφορική διάγνωση, και την παρακολούθηση της ΡΑ σε σχέση με τις συμβατικές τεχνικές, όπως συγκόλληση στο λάτεξ και νεφελομετρία. Ενώ οι ΡΠ της υπο-ομάδας IgM είναι πιο ευαίσθητοι στη διάγνωση της ΡΑ, και ως εκ τούτου πιο κατάλληλοι για το screening, οι ΡΠ της υπο-ομάδας IgG είναι περισσότερο ειδικοί για την ΡΑ και όπως η υπο-ομάδα IgA, είναι συσχετισμένοι με τις κλινικές παραμέτρους και με την παθολογική δραστηριότητα. Η παρουσία και των τριών αυτών υπο-ομάδων αυξάνει την ειδικότητα για την ΡΑ, στο 100%.

Οι ΡΠ στον ΣΕΛ συνδέονται με το σύνδρομο sicca, με την υπερ-γ-σφαιριναιμία, με έναν υψηλό τίτλο αντιπυρηνικών

αντισωμάτων, με την αναιμία και γενικά με την εμφάνιση των αντισωμάτων SS-A και SS-B. Και οι 3 αυτές οι υπο-ομάδες ανιχνεύονται στον ΣΕΛ. Ειδικά η υπο-ομάδα IgA υποδεικνύει μία υπο-ομάδα ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, που χαρακτηρίζονται από ευκρινή φαινόμενα αυτοανοσίας και από μία ισχυρή παθολογική δραστηριότητα, χωρίς να αναπτύσσουν νεφρίτιδα.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus RF-M είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των Ρευματοειδών Παραγόντων IgM, στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Διεθνείς Μονάδες (IU/ml).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.

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

Αναλυτικές οδηγίες

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

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ίδιου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυταιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.

12. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86040).

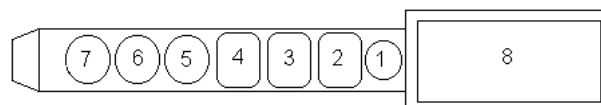
Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86040/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86040).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86040/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με ανθρωπίνων ανοσοσφαιρινών κεκαθαρισμένο (IgG)

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: Πρωτεϊνικό διάλυμα, αλατούχο που περιέχει Proclin (0.1%).

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

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

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει Ρευματοειδών Παραγόντων IgM και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει Ρευματοειδών Παραγόντων IgM και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

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

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

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

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

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Διεθνείς Μονάδες Μέτρησης (IU/ml) (WHO International Standard), που υπολογίζονται βάσει ενός γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18 IU/ml
ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12 IU/ml
ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 12 και 18 IU/ml

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να

αξιολογείται σε συνδιασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 3.0 - 300 IU/ml.

Για δείγματα > 300 IU/ml επαναλάβετε το τεστ αραιώνοντας πρώτα το δείγμα σε Negative Control/Sample Diluent (Αρνητικό Έλεγχο/Δείγμα Διαλύτη) (PF83607- δεν παρέχεται με το kit).

13. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι αναμενόμενες τιμές στον φυσιολογικό πληθυσμό, οι οποίες προσδιορίστηκαν κατόπιν ανάλυσης 120 δειγμάτων ορού από υγιείς δότες, κυμαίνονταν μεταξύ 3.0 και 10.1 IU/ml.

14. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

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

Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl - 150 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 140 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Σύνολο	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100% CI_{95%}: 96.7-100

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0.97.

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή (IU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (IU/ml)	CV%
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή (IU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (IU/ml)	CV%
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
- Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS RF-M

Para la determinación cuantitativa de Factores Reumatoides IgM

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de Factores Reumatoides IgM en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Los factores reumatoides (RF) descritos por vez primera en 1940 como anticuerpos que reaccionan con gamma globulinas, son anticuerpos dirigidos contra la parte C-terminal de la región constante de la cadena pesada de IgG, la IgG Fc.

Aunque fueron denominados después de la enfermedad, fueron inicialmente asociados con ella. Los RFs se encuentran tanto en la población sana como en varias enfermedades. Las enfermedades comunemente asociadas con elevadas concentraciones de RF son la artritis reumatoide (50-90%) y el síndrome de Sjögren (75-95%). También se encuentran en el lupus eritematoso sistémico (LES; 15-35%), esclerose sistémica (20-30%), polimiositisi/dermatomiositis (5-10%), crioglobulinemia (40-100%) y enfermedades mixtas del tejido conectivo (MCTD; 50-60%).

Aunque la presencia de RF IgM ha sido considerado como el marcador serológico más importante para la AR, de ahí incluido en la lista de criterios de la ACR para el diagnóstico de la enfermedad, el RF de las subclases IgG e IgA son importantes también para el diagnóstico.

La determinación de estos isotipos proporciona información adicional en cuanto al diagnóstico, diagnóstico diferencial y seguimiento de la AR en comparación a las técnicas convencionales como la aglutinación en látex y la nefelometría. Mientras el RF de la subclase IgM es más sensible para el diagnóstico de la AR, de ahí que más apropiado para el screening, el RF de la subclase IgG es más específico y al igual que la subclase IgA, correlaciona con los parámetros clínicos y la actividad de la enfermedad. La presencia de las tres subclases juntas es específica 100% para la AR.

El RF en LES está asociado con el síndrome de Sicca, hipergammaglobulinemia, título elevado de anticuerpos antinucleares, anemia y habitualmente con la aparición de anticuerpos SS-A y SS-B. Las tres subclases se encuentran en el LES. Especialmente la subclase IgA define un subgrupo de

pacientes con LES caracterizados por fenómenos distintos y elevada actividad de la enfermedad en la ausencia de nefritis.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus RF-M está listo para su uso para la detección de Factores Reumatoides IgM, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

El resultado se expresa en Unidades Internacionales (IU/ml).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al

hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.

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

Precauciones analíticas

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

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

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86040).

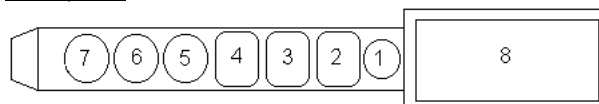
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86040/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86040).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86040/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con inmunoglobulinas (IgG) humanas purificadas

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas, salina y que contiene Proclin (0.1%)

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene Factores Reumatoides IgM y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene Factores Reumatoides IgM y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces.

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

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en Unidades Internacionales (IU/ml) (WHO International Standard), calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

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

POSITIVO cuando el resultado es > 18 IU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 12 IU/ml

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 12 y 18 IU/ml

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

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0 - 300 IU/ml.

Para muestras > 300 IU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. VALORES DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 3.0 y 10.1 IU/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

Bilirrubina (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Triglicéridos (10 mg/dl - 150 mg/dl)

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

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

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 140 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Total	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 96.7-100

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.97.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. WitteT, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS RF-M

Pour la détermination quantitative des Facteurs Rhumatoïdes IgM

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination quantitative des Facteurs Rhumatoïdes IgM dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Les facteurs rhumatoïdes, décrits pour la première fois en 1940 comme des anticorps réagissant avec les gammaglobulines, sont des auto-anticorps dirigés contre la partie C-terminale de la région constante de la chaîne lourde des IgG, c'est à dire les IgG Fc.

Bien que le nom dérive de la maladie à laquelle ils étaient associés initialement, on peut retrouver les RF aussi bien dans la population saine que dans diverses situations pathologiques. Les maladies fréquemment associées aux hautes concentrations de RF sont l'arthrite rhumatoïde (50-90%) et le Syndrome de Sjögren (75-95%). Ceux-ci sont présents également dans le lupus érythémateux (SLE; 15-35%), la sclérose systémique (20-30%), polymyosite/dermomiosite (5-10%), cryoglobulinémie (40-100%) et dans les maladies du tissu conjonctif (MCTD; 50-60%).

Bien que la présence dans le sérum des IgM anti-RF a été considérée le marqueur sérologique le plus important pour la RA, et est donc inclus dans la liste ACR des critères pour le diagnostic de cette maladie, les RF des sous-classes IgG et IgA sont autrement importantes pour le diagnostic.

La détermination de ces isotypes fournit des informations supplémentaires relatives au diagnostic, le diagnostic différentiel et le monitoring de la RA par rapport aux techniques traditionnelles telles que l'agglutination au latex et la néphélométrie. Tandis que la RF de la sous-classe des IgM est plus sensible pour le diagnostic de la RA et donc plus adapté au screening, la RF de la sous-classe des IgG est plus spécifique pour la RA et, comme la sous-classe des IgA, corrélées aux paramètres cliniques et à l'activité pathologique. La présence des trois sous-classes est spécifique à 100% pour la RA.

Les RF dans le SLE sont associés au Syndrome Sicca, à l'hypergammaglobulinémie, à un titre élevé d'anticorps anti-nucléaires, à l'anémie et généralement à l'apparence des

anticorps SS-A et SS-B. Les trois sous-classes se retrouvent dans le SLE. En particulier, la sous-classe IgA définit un sous-groupe de patients atteints de SLE caractérisés par des phénomènes auto-immunitaires distincts et une forte activité pathologique en absence de néphrite.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus RF-M est prêt à l'usage pour la détermination des Facteurs Rhumatoïdes IgM, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

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

Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté. La couleur qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum en examen.

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

Le résultat est exprimé en Unités Internationales (IU/ml).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).

5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1 % minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à une concentration de 1 % pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+ 18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

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

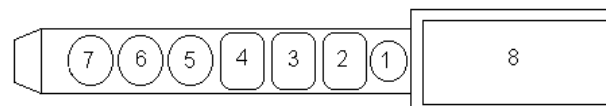
5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86040).
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86040/12).

DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86040).
2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86040/12).

Description:



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

Position 7: Vide

Position 6: Puits de la microplaque

Sensibilisé avec immunoglobulines (IgG) humaines purifiées

Position 5: Puits de la microplaque

Non sensibilisé.

Position 4: Substrat TMB

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

Position 3: Diluant pour les échantillons

Contenu: Solution protéique, saline et contenant Proclin (0.1%)

Position 2 : Conjugue

Contenu: anticorps monoclonaux anti-IgM humaines marqués avec la peroxydase, dans un tampon phosphate contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox

Position 1 : Puits vide

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

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR **1 x 0.175**

Contenu: Sérum humain dilué contenant des Facteurs Rhumatoïdes IgM et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF **1 x 0.425 ml**

Contenu: Sérum humain dilué contenant des Facteurs Rhumatoïdes IgM et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Instrument Chorus/Chorus TRIO

- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé conformément aux procédures standard de laboratoire.

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

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20 °C.

L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations.

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

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

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

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires pour réaliser les examens et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.

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

9. VALIDATION DU TEST

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

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en Unités Internationales (IU/ml) (WHO International Standard), calculées sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

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

POSITIF quand le résultat est > 18 IU/ml

NÉGATIF quand le résultat est < 12 IU/ml

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 12 et 18 IU/ml

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

11. LIMITES DU TEST

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

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

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 3.0 - 300 IU/ml.

Pour les échantillons > 300 IU/ml, répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - non fourni avec le coffret).

13. INTERVALLES DE CONTRÔLE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées après l'examen de 120 sérums de donneurs sains, étaient comprises entre 3.0 et 10.1 IU/ml.

14. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

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

Bilirubine (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Triglycérides (10 mg/dl - 150 mg/dl)

Hémoglobine (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 140 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

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

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Total	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 96.7-100

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.97.

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne (IU/ml)	CV %	Moyenne (IU/ml)	CV %
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (IU/ml)	CV %	Moyenne (IU/ml)	CV %
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS RF-M

Para a determinação quantitativa dos Factores Reumatóides IgM

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação quantitativa dos Factores Reumatóides IgM no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

Os factores reumatóides, descritos pela primeira vez em 1940 como anticorpos reagentes com as gamaglobulinas, são auto-anticorpos dirigidos contra a parte C-terminal da região constante da cadeia pesada das IgG, isto é as IgG Fc.

Apesar de o seu nome derivar da doença à qual inicialmente eram associados, os RF podem ser encontrados na população saudável ou em diferentes situações patológicas. As doenças frequentemente associadas a concentrações elevadas de RF são a artrite reumatóide (50 a 90%) e a síndrome de Sjögren (75 a 95%). Esses também estão presentes no Lupus eritematoso sistémico (LES; 15 a 35%), esclerose sistémica (20 a 30%), polimiositose/dermomyositose (5 a 10%), crioglobulinemia (40 a 100%) e nas doenças do tecido conectivo (MCTD; 50 a 60%).

Apesar da presença no soro das IgM anti-RF foi considerado o marcador serológico mais importante para a RA e portanto está incluído na lista ACR dos critérios para o diagnóstico desta doença, os RFF das subclasses IgG e IgA também são importantes para o diagnóstico.

A determinação destes isotipos fornece outras informações relativas ao diagnóstico, o diagnóstico diferencial e o controlo da RA em relação às técnicas tradicionais, tais como a aglutinação ao látex e a nefelometria. Enquanto que os RF da subclasse IgM são mais sensíveis para o diagnóstico da RA e portanto mais adequado para a despistagem, os RF da subclasse IgG são mais específicos para a RA e, como a subclasse IgA, relacionados aos parâmetros clínicos e à actividade patológica. A presença de todas as três subclasses é específica da RA, a 100%.

Os RF no LES estão associados ao síndrome de Sicca, à hipergamaglobulinemia, a uma titulação elevada de anticorpos antinucleares, à anemia e, geralmente, à presença de anticorpos SS-A e SS-B. Na LES encontram-se todas as 3 subclasses. Em particular a subclasse IgA define um subgrupo

de pacientes que sofrem de LES, caracterizados por fenómenos autoimunes diferentes e uma grande actividade patológica em ausência de nefrite.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus RF-M está pronto para ser utilizado na determinação dos Factores Reumatóides IgM, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase. A cor que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro analisado.

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

O resultado é expresso em Unidades Internacionais (IU/ml).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

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

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

Advertências analíticas

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

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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86040).

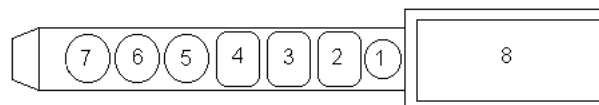
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86040/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86040).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86040/12).

Descrição:



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

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com imunoglobulinas (IgG) humanas purificadas

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica, salina contendo Proclin (0.1%)

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Conteúdo: Soro humano diluído que contém Factores Reumatóides IgM e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído que contém Factores Reumatóides IgM e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS:

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

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

A inativação ao calor pode levar a resultados errados. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações do Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em Unidades Internacionais (IU/ml) (WHO International Standard), calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 18 IU/ml
NEGATIVO quando o resultado for < 12 IU/ml
INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 12 e 18 IU/ml

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0 – 300 IU/ml.

Para amostras > 300 IU/ml repetir o teste diluindo primeiramente a amostra com o Negative Control/Sample Diluent (PF83607- não fornecido com o kit).

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados examinando 120 soros de doadores saudáveis, estavam compreendidos entre 3.0 e 10.1 IU/ml.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

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

Bilirrubina (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl - 150 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 140 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
	Diesse	27	0	27
	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Total	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

100% CI_{95%}: 96.7-100

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.97.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

17. BIBLIOGRAFIA

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. WitteT, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS RF-M

Pro kvantitativní stanovení revmatoidních faktorů IgM

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. POUŽITÍ

Metoda enzymové imunoanalýzy pro kvantitativní stanovení IgM revmatoidních faktorů v lidském séru pomocí jednorázového zařízení použitého na přístrojích Chorus a Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Revmatoidní faktory, poprvé popsány v roce 1940 jako protilátky reagující s gamaglobuliny, jsou autoprotilátky namířené proti C-koncové části konstantní oblasti těžkého řetězce IgG, tedy IgG Fc.

Ačkoli je název odvozen od nemoci, se kterou byly původně spojovány, RF se vyskytují jak ve zdravé populaci, tak v různých patologických situacích. Mezi onemocnění často spojená s vysokými koncentracemi RF patří revmatoidní artritida (50-90 %) a Sjögrenův syndrom (75-95 %). Vyskytují se také u systémového lupus erythematoses (SLE; 15-35 %), systémové sklerózy (20-30 %), polymyozitidy/dermomyozitidy (5-10 %), kryoglobulinemie (40-100 %) a onemocnění pojivové tkáně (MCTD; 50-60 %).

Ačkoli je přítomnost anti-RF IgM v séru považována za nejdůležitější sérologický marker RA, a je proto zařazena do seznamu kritérií ACR pro diagnózu tohoto onemocnění, RFF podtříd IgG a IgA jsou pro diagnózu stejně důležité.

Stanovení těchto izotypů poskytuje ve srovnání s tradičními technikami, jako je latexová aglutinace a nefelometrie, další informace týkající se diagnostiky, diferenciální diagnostiky a sledování RA. Zatímco RF podtříd IgM jsou pro diagnózu RA citlivější, a tedy vhodnější pro screening, RF podtříd IgG jsou pro RA specifičtější a stejně jako podtřída IgA korelují s klinickými parametry a aktivitou onemocnění. Přítomnost všech tří podtříd je pro RA stoprocentně specifická.

RF u SLE je spojen se syndromem sicca, hypermaglobulinémií, vysokým titrem antijaderných protilátek, anémií a obecně výskytem protilátek SS-A a SS-B. Všechny tři podtříd se vyskytují v SLE. Zejména podtřída IgA definuje podskupinu pacientů se SLE, která se vyznačuje výraznými autoimunitními jevy a silnou aktivitou onemocnění při absenci nefritidy.

3. PRINCIP METODY

Zařízení Chorus RF-M je připraveno k použití pro stanovení IgM revmatoidních faktorů v přístrojích Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymově vázaná imunisorbční analýza). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny se vážou na antigen po inkubaci se zředěným lidským sérem. Po promytí k odstranění nezreagovaných proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z lidských antiimunoglobulinových protilátek konjugovaných s křenovou peroxidázou. Nenávaný 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 mezinárodních jednotkách (IU/ml).

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ *IN VITRO*.

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

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

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

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

Opatření pro správné provedení testu

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

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

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86040).

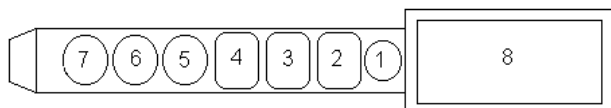
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86040/12).

DD ZAŘÍZENÍ

6 balení po 6 zařízeních v každém balení (REF 86040).

2 balení po 6 zařízeních v každém balení (REF 86040/12).

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Senzibilizováno purifikovanými lidskými imunoglobuliny IgG

Pozice 5: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Nesenzibilizováno.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kde musí uživatel dávkovat neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0,175 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující IgM revmatoidního faktoru a konzervační látku. Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující IgM revmatoidního faktoru a konzervační látku. Tekutina připravená k použití.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Přístroj Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebírat objemy 50-200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádobý pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

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

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

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

ZAŘÍZENÍ	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8 °C

7. TYP VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

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

Důsledky použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

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

Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát.

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 neřaděného analyzovaného séra, při každé výměně dávky použijte kalibrátor.
4. Umístěte zařízení na přístroj Chorus/Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li vyžadována) a test podle návodu k použití přístroje.

9. VALIDACE TESTU

Použijte pozitivní kontrolní sérum k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje. Pokud přístroj indikuje, že kontrolní sérum má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo rozmezí přijatelnosti, kontaktujte oddělení vědecké podpory.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj Chorus/Chorus TRIO poskytuje výsledek v mezinárodních jednotkách (IU/ml) (mezinárodní standard WHO), vypočítaný z grafu závislého na dávce, který je uložen v přístroji.

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12 AU/ml

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

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

11. OMEZENÍ TESTU

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

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

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 3,0 – 300 IU/ml.

U vzorků >300 IU/ml zopakujte test předřazením vzorku v negativní kontrole/ředidle pro vzorky (PF83607 - není součástí soupravy).

13. REFERENČNÍ ROZSAHY

Očekávané hodnoty v normální populaci, stanovené testováním 120 sér zdravých dárců, se pohybovaly mezi 3,0 a 10,1 IU/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

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

Bilirubin (4,5 mg/dl - 18 mg/dl)

Triglyceridy (10 mg/dl - 150 mg/dl)

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

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

15. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jednom experimentu bylo analyzováno 140 vzorků pomocí soupravy Diesse a další komerční soupravy.

Níže jsou shrnuty údaje ze studie:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Celkem	28	112	140

Procento pozitivní shody (~ Diagnostická citlivost):

96,4% CI_{95%}: 82,3-99,2

Procento negativní shody: (~Diagnostická specifita):

100% CI_{95%}: 96,7-100

Míra shody mezi oběma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 0,97.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	V rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (IU/ml)	CV%	Průměr (IU/ml)	CV%
1	75,1	3,8	83,1	5,2
2	120,6	7,1	106,2	6,2
3	108,0	4,6	96,8	5,2
4	7,8	6,8	7,5	4,1

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (IU/ml)	CV%	Průměr (IU/ml)	CV%
1	76,9	7,4	75,7	9,6
2	101,5	12,5	97,8	8,4
3	89,2	13,4	89,4	8,2
4	7,4	3,1	7,1	6,5

17. BIBLIOGRAFIE

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Association with clinical and laboratory parameters. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.



INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA

CHORUS RF-M

Do ilościowego oznaczania czynników reumatoidalnych IgM

Tylko do użytku diagnostycznego *in vitro*

1. ZASTOSOWANIE

Metoda immunoenzymatyczna do ilościowego oznaczania czynników reumatoidalnych IgM w surowicy ludzkiej za pomocą jednorazowego urządzenia zastosowanego w aparatach Chorus i Chorus TRIO.

2. WPROWADZENIE

Czynniki reumatoidalne, opisane po raz pierwszy w 1940 roku jako przeciwciała reagujące z gammaglobulinami, są autoprzeciwciałami skierowanymi przeciwko C-końcowej części regionu stałego łańcucha ciężkiego IgG, czyli IgG Fc.

Chociaż nazwa wywodzi się od choroby, z którą początkowo je kojarzono, RF mogą występować zarówno w zdrowej populacji, jak i w różnych sytuacjach patologicznych. Choroby często związane z wysokim stężeniem RF to reumatoidalne zapalenie stawów (50-90%) i zespół Sjögrena (75-95%). Występują również w toczniu rumieniowatym układowym (SLE; 15-35%), twardzinie układowej (20-30%), zapaleniu wielomięśniowym/skórnym (5-10%), krioglobulinemii (40-100%) i chorobach tkanki łącznej (MCTD; 50-60%).

Chociaż obecność anty-RF IgM w surowicy została uznana za najważniejszy marker serologiczny RZS i dlatego znajduje się na liście kryteriów rozpoznania tej choroby wg ACR, to RFF podklasy IgG i IgA są równie ważne dla rozpoznania.

Oznaczanie tych izotypów dostarcza dodatkowych informacji dotyczących diagnostyki, diagnostyki różnicowej i monitorowania RZS w porównaniu z tradycyjnymi technikami, takimi jak aglutynacja lateksowa i nefelometria. Podczas gdy RF podklasy IgM są bardziej czułe w rozpoznawaniu RZS, a tym samym bardziej odpowiednie do badań przesiewowych, RF podklasy IgG są bardziej specyficzne dla RZS i podobnie jak podklasa IgA korelują z parametrami klinicznymi i aktywnością choroby. Obecność wszystkich trzech podklas jest w 100 procentach specyficzna dla RZS.

RF w SLE wiąże się z syndroma sicca, hipergammaglobulinemią, wysokim mianem przeciwciał przeciwiądrowych, niedokrwistością i ogólnie pojawieniem się przeciwciał SS-A i SS-B. Wszystkie 3 podklasy występują w SLE. W szczególności podklasa IgA definiuje podgrupę chorych na SLE charakteryzującą się odrębnymi zjawiskami

autoimmunologicznymi i silną aktywnością choroby przy braku zapalenia nerek.

3. ZASADA METODY

Urządzenie Chorus RF-M jest gotowe do użycia do oznaczania czynników reumatoidalnych IgM w aparatach Chorus/Chorus TRIO.

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

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

Wyniki wyrażone są w jednostkach międzynarodowych (IU/ml).

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

TYLKO DO UŻYTKU DIAGNOSTYCZNEGO *IN VITRO*.

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

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

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

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

6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy odkazić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru. Wszystkie materiały użyte do odkażania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakażone. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

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

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

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na 36 oznaczeń (REF 86040).

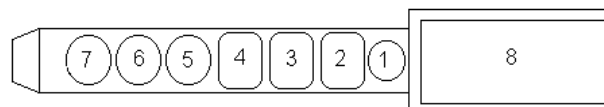
Zestaw wystarcza na 12 oznaczeń (REF 86040/12).

DD URZĄDZENIA

6 opakowań po 6 urządzeń (REF 86040).

2 opakowania po 6 urządzeń (REF 86040/12).

Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: Puste

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ

Uczulona oczyszczonymi ludzkimi immunoglobulinami IgG

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPLYTKĘ

Nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

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

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA

Gdzie użytkownik musi dozować nierozcieńczoną surowicę.

Sposób użycia: doprowadzić kopertę do temperatury

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

CALIBRATOR KALIBRATOR

1 x 0,175 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka zawierająca czynnik reumatoidalny IgM i środek konserwujący. Płynna, gotowa do użycia.

CONTROL + KONTROLA POZYTYWNA

1 x 0,425 ml

Zawartość: Rozcieńczona surowica ludzka zawierająca czynnik reumatoidalny IgM i środek konserwujący. Płynna, gotowa do użycia.

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 (REF 83607)
- Aparat Chorus/Chorus TRIO
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykle szkło laboratoryjne: cylindry, probówki itp.
- Mikropipety umożliwiające dokładne pobieranie objętości 50-200 µl.
- Rękawice jednorazowe
- 5% roztwór podchlorynu sodu
- Pojemniki do zbierania potencjalnie zakażonych materiałów

6. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

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

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

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

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

7. RODZAJ PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

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

Nie są znane konsekwencje stosowania innych płynów biologicznych.

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

Próbka może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom.

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

Inaktywacja termiczna może dać błędne wyniki. Na jakość próbki może mieć poważny wpływ zanieczyszczenie mikrobiologiczne, które może prowadzić do błędnych wyników.

8. PROCEDURA

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

9. WALIDACJA BADANIA

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

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

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

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat Chorus/Chorus TRIO podaje wynik w jednostkach międzynarodowych (IU/ml) (Międzynarodowy Standard WHO), obliczony na podstawie wykresu zależnego od partii, zapisanego w aparacie.

Badanie na surowicy można zinterpretować w następujący sposób:

POZYTYWNY: gdy wynik jest > 18 IU/ml

NEGATYWNY: gdy wynik jest < 12 IU/ml

Wątpliwe/EQUIVOCAL: gdy wynik jest pomiędzy 12 a 18 IU/ml

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

11. OGRANICZENIA BADANIA

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

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

12. ZAKRES KALIBRACJI

Zakres kalibracji 3,0 - 300 IU/ml.

W przypadku próbek > 300 IU/ml powtórz test, rozcieńczając wstępnie próbkę w Kontroli Negatywnej/Rozcieńczalniku do próbek (PF83607- nie dołączony do zestawu).

13. PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE

Wartości oczekiwane w normalnej populacji, określone na podstawie badania 120 surowicy zdrowych dawców, wynosiły od 3,0 do 10,1 IU/ml.

14. SPECYFICZNOŚĆ ANALITYCZNA

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

Bilirubina (4,5 mg/dl - 18 mg/dl)
Trójglicerydy (10 mg/dl - 150 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

15. BADANIA PORÓWNAWCZE

W ramach eksperymentu przeanalizowano 140 próbek za pomocą zestawu Diesse i innego zestawu z handlu. Poniżej przedstawiono zarys danych eksperymentalnych:

		Oдноśnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	27	0	27
	-	1	112	113
	Razem	28	112	140

Percent Positive Agreement (~Czułość diagnostyczna):

96.4% CI_{95%}: 82.3-99.2

Procentowa zgodność negatywna: (~specyficzność diagnostyczna):

100% CI_{95%}: 96.7-100

Stopień zgodności pomiędzy obiema metodami jest doskonały z wartością K (Cohen's Coefficient) wynoszącą 0,97.

16. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

Próbka	W ramach sesji		Między sesjami	
	Średnia (IU/ml)	CV%	Średnia (IU/ml)	CV%
1	75.1	3.8	83.1	5.2
2	120.6	7.1	106.2	6.2
3	108.0	4.6	96.8	5.2
4	7.8	6.8	7.5	4.1

Próbka	Między partiami		Między przyrządami	
	Średnia (IU/ml)	CV%	Średnia (IU/ml)	CV%
1	76.9	7.4	75.7	9.6
2	101.5	12.5	97.8	8.4
3	89.2	13.4	89.4	8.2
4	7.4	3.1	7.1	6.5

17. BIBLIOGRAFIA

1. Peter J.B., Shoenfeld Y (1996), Autoantibodies, Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.
2. Witte T, Hartung K, Sachse C, Matthias T, Fricke M, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE (2000) Rheumatoid factors in systemic lupus erythematosus: Związek z parametrami klinicznymi i laboratoryjnymi. SLE study group, Rheumatol Int 19: 107-111.

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