

CHORUS



dsDNA-G

REF 86032

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.

REF 86032/12

Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	5





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS dsDNA-G

Per la determinazione quantitativa degli anticorpi IgG anti-dsDNA

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa degli anticorpi IgG anti-dsDNA nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

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

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

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

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

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo dsDNA-G è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-dsDNA negli strumenti CHORUS. Il test si basa sul principio ELISA. L'antigene, altamente purificato, 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 monoclonali, altamente specifici per le 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 blu 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 quando applicati agli strumenti Chorus.

Il kit Chorus dsDNA-G viene calibrato in riferimento a sieri forniti dal CDC Atlanta. 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.
4. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato contiene fenolo
 - b) Il substrato è acido
 Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
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.

- Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
- Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
- Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
- I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale Utente dello strumento.
- Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
- Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
- Evitare l'uso di congelatori auto sbrinatori per la conservazione dei campioni.
- Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
- Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
- Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
- Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
- Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
- Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
- 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 86032).

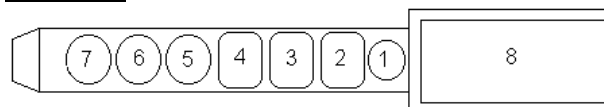
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86032).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86032/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con dsDNA altamente purificato.

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica, contenente Tween-20 0.2% e Proclin 0.1%.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.175 ml**

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

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

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

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- 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 una 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. 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. I Dopo 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.

Campioni fortemente lipemici, itterici o inquinati non possono essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano

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. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel manuale d'uso 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 fornisce un risultato in unità internazionali IU/ml (WHO/80) calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO quando il risultato è > 30.0 IU/ml

NEGATIVO quando il risultato è < 20.0 IU/ml

DUBBIO/EQUIVOCO quando il risultato è compreso fra 20.0 e 30.0 IU/ml

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i risultati positivi necessitano di una attenta interpretazione.

Il test non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica.

Un risultato negativo non preclude la eventualità di malattia.

Il risultato del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 10.0-150.0 IU/ml.

Per campioni >150.0 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 10.0 e 19.8 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:

Fattore Reumatoide (44 – 220 UI/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Emoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

15. CROSS-REATTIVI

Campioni, positivi a PR-3, MPO, Cardiolipin, Gliadin, AMA-M2, Transglutaminase, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Cenp-B, Jo-1, U1-70, snRNP e ASCA sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

16. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione sono stati analizzati 159 campioni con kit Diesse e con altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Totale	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

97.2% CI_{95%}: 93.0-98.9

17. PRECISIONE

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. BIBLIOGRAFIA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

Prodotto da

DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.

Strada dei Laghi 39

53035 Monteriggioni (SIENA)

Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS dsDNA-G

For the quantitative determination of IgG-class antibodies against dsDNA

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

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

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The dsDNA-G devices are ready to use for the assay of IgG-class antibodies against dsDNA in the CHORUS instruments. The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

The antigen, highly purified, is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted human serum.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of monoclonal antibodies, highly specific for anti-human immunoglobulins conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added.

The blue 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 when applied on the Chorus instruments.

The Chorus dsDNA-G is calibrated against reference sera from the CDC (Atlanta). The results are expressed in 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 material of human origin.

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 instrument.
4. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate contains phenol
 - b) The substrate is acid
 If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.
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.

- Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% 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.

- Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
- Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
- 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.
- The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
- Check that the Chorus instrument is set up correctly (see Chorus Operating Manual).
- Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
- Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
- Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
- Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
- The use of strongly hemolyzed samples or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
- Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
- Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
- Do not use the device after the expiry date.
- 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 86032).

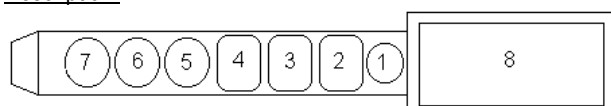
The kit is sufficient for 12 tests. (REF 86032/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86032).

2 packages each containing 6 devices (REF 86032/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with highly purified dsDNA

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: Proteic solution containing Tween-20 0.2% and Proclin 0.1%.

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-dsDNA and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-dsDNA and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- 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. 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. Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples cannot be used.

The test cannot be applied to plasma.

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 instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus 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 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 instrument expresses the result in IU/ml (WHO/80) calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 30.0 IU/ml

NEGATIVE: when the result is < 20.0 IU/ml

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 20.0 and 30.0 IU/ml

In the case of a doubtful result, repeat the test. If the test remains doubtful, collect a new sample.

11. LIMITATIONS

All the positive results require a careful interpretation.

The test cannot be used as only method for a clinical diagnosis. Negative results may not exclude an eventual infection.

The test results should be interpreted in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic procedures.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 10.0-150.0 IU/ml.

For samples > 150.0 IU/ml repeat the test pre-diluting the sample with 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 10.0 and 19.8 IU/ml.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

5 samples (2 negative, 1 Cut-Off and 2 Positive) containing the following interfering substances were tested:

Rheumatoid Factor (44 – 220 UI/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglycerides (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobin (5 mg/ml – 30 mg/ml)

The presence in the tested serum of the interfering substances listed above did not alter the results of the test.

15. CROSS-REACTIONS

Samples positive to PR-3, MPO, Cardiolipin, Gliadin, AMA-M2, Transglutaminase, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Cenp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, and ASCA were tested.

No significant cross-reactions were found.

16. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

In an experimentation 159 samples were tested with the Diesse kit and with another commercial kit.

The results are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Total	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity): 97.2%

CI_{95%}: 93.0-98.9

17. PRECISION

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. REFERENCES

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalder JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2: 383-394.
4. Slobbe RL et al: (1991) Clin. Exp. Immunol. 86: 99-105.

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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS dsDNA-G

Pro kvantitativní stanovení IgG anti- dsDNA protilátek

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k kvantitativnímu stanovení IgG anti-dsDNA protilátek v lidském séru za použití jednorázového zařízení aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Protilátky, které se váží na DNA, patří do skupiny antinukleárních protilátek (ANA), které byly zjištěny u několika autoimunitních onemocnění. Protilátky reagující s nativní dvouvláknovou (ds) DNA se považují za specifické pro systémový lupus erythematosus (SLE) a byly zjištěny u zhruba 50– 80 % pacientů.

Protilátky proti dsDNA se nacházejí v průběhu aktivní fáze SLE. Koncentrace v séru pozitivně koreluje se závažností onemocnění, a proto je detekce těchto autoprotilátek důležitá pro diagnózu a klinické sledování SLE. Detekce těchto autoprotilátek reprezentuje jedno z 11 ACR kritérií pro diagnózu SLE.

Většina pacientů postižených SLE vykazuje protilátky třídy IgG proti dsDNA. Tyto autoprotilátky jsou asociovány s lupus nephritis. U zhruba 30 % pacientů trpících SLE se navíc objevují také anti-dsDNA protilátky třídy IgA. Existuje názor, že přítomnost těchto anti-dsDNA protilátek třídy IgA může vymezovat určitou podskupinu SLE pacientů. Studie opravdu prokázaly spojení této podtřídy s jistými parametry aktivity tohoto onemocnění, jako jsou zvýšená rychlost sedimentace erytrocytů či rozpad komplementárního komponentu C3, jakož i klinické parametry kožní vaskulitidy, akrální nekrózy a erytému. S nefritidou a artritidou však žádná asociace zjištěna nebyla. anti-dsDNA protilátky třídy IgM byly nalezeny v 52 % sér od pacientů trpících SLE. Narozdíl od autoprotilátek třídy IgG a IgA protilátky třídy IgM nekorelují s aktivitou onemocnění. Byla však dokázána velmi výrazná negativní korelace mezi anti-dsDNA IgM protilátkami a lupus nephritis, včetně laboratorních parametrů. Proto mohou anti-dsDNA protilátky třídy IgM indikovat podskupinu pacientů s lupus, kterým nehrozí riziko vzniku nephritis.

3. PRINCIP METODY

dsDNA-G nástroje jsou připraveny k použití při rozboru protilátek IgG proti dsDNA v zařízení CHORUS. Test je založen na principu ELISA (Enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška).

Vysoce purifikovaný antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

Po promytí sloužícímu k odstranění nezreagovaných proteinů následuje inkubace s konjugátem, složeným z monoklonálních protilátek, vysoce specifických vůči lidským imunoglobulinům a konjugovaných s křenovou peroxidázou

Navázaný konjugát je eliminován a přidá se peroxidázový substrát.

Modré zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

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

Chorus dsDNA-G je kalibrován za použití referenčních sér od CDC (Atlanta). Výsledky jsou vyjádřeny v IU/ml.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS si důkladně umyjte ruce.
10. Následující reagenty obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých látek:
 - c) Konjugát a kontroly obsahují fenol.
 - d) Substrát obsahuje kyselinu.
 Přijde-li jakákoliv reagentie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlomanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chloman sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a

kontaminovanou oblast umýt, například 1,0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevrháte do autoklávy.

Opatření pro správné provedení testu

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

15. **Nástroje, které vykazují modrou barvu substrátu (jamka 4), zlikvidujte.**
16. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
17. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagentie a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagentie, nepoužívejte.
18. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
19. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
20. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
21. Ke skladování vzorků nepoužívejte samorozmrazovací mrazáky.
22. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
23. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
24. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
25. Než do zařízení vložíte nástroje, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
26. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
27. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
28. **Zkontrolujte, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86032).

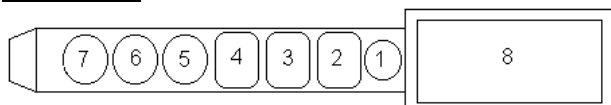
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86032/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86032).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86032/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Místo k upevnění štítku s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Potažená vysoce purifikovaným dsDNA.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: tetrametylbendizin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaný v 0.05 mol/l citrátovém pufru (pH 3.8).

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: bílkovinný roztok obsahující 0.2% Tween-20 a 0.1% Proclin

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.175 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti dsDNA a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0.425 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti dsDNA a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004).
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609).
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608).
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607).
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagentie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE

8 týdnů při teplotě 2–8 °C

KALIBRÁTOR 8 týdnů při teplotě 2–8 °C

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum sebrané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí. Čerstvé sérum lze skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě –20 °C. Romrazovat se smí maximálně 3krát. Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením. Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat. Inaktivace teplem může vést k chybným výsledkům. Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

Silně lipemické, ikterické, hemolyzované či kontaminované vzorky nelze použít.

Test nelze aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Chorus nástroj vyjadřuje výsledky v IU/ml (WHO/80) vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ při poměru > 30.0 IU/ml,

NEGATIVNÍ při poměru < 20.0 IU/ml,

SPORNÉ/NEJASNÉ pro všechny hodnoty mezi 20.0 a 30.0 IU/ml.

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

11. OMEZENÍ

Všechny pozitivní výsledky vyžadují pečlivou interpretaci.

Test nelze použít pouze jako jedinou metodu pro stanovení klinické diagnózy.

Negativní výsledky nemusí vylučovat eventuální infekci.

Výsledky testu je třeba interpretovat v kombinaci s informacemi získanými z klinického vyhodnocení a na základě ostatních diagnostických procedur.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 10.0–150.0 IU/ml.

Pro vzorky > 150.0 IU/ml test zopakujte s předředěním vzorku pomocí ředícího roztoku pro negativní kontrolu/vzorek (PF83607 – není součástí soupravy).

13. REFERENČNÍ ROZMEZÍ

V normální populaci se očekávané hodnoty, stanovené na základě měření 120 sér od zdravých dárců, pohybovaly mezi 10.0 a 19.8 IU/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

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

Rheumatoidní faktor (44–220 UI/ml).

Bilirubin (4.5 mg/dl–45 mg/dl).

Triglyceridy (10 mg/dl–250 mg/dl).

Hemoglobin (5 mg/ml–30 mg/ml).

Přítomnost výše uvedených rušivých látek v testovaném vzorku neměla vliv na výsledky testu.

15. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány vzorky pozitivní na PR-3, MPO, kardiolipin, gliadin, AMA-M2, transglutaminázu, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Ccp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, e ASCA.

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

16. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

V experimentu bylo testováno 159 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje níže uvedená tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Celkem	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Diagnostická citlivost):

94.1% CI_{95%}: 72.9–98.8

Percent Negative Agreement: (~Diagnostická specifičnost):

97.2% CI_{95%}: 93.0–98.9

17. PŘESNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (IU/ml)	CV%	Průměr (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (IU/ml)	CV%	Průměr (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

	Datum výroby
	Použitelné do
	Nepoužívejte opakovaně
	Pozor, čtěte přiložené dokumenty
	Výrobce
	Obsah stačí na < n > testů
	Teplotní omezení
	Čtěte návod k použití
	Biologická rizika
	Katalogové číslo
	Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Kód šarže

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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS dsDNA-G

**Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG αντι-dsDNA**

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG αντι-dsDNA στον ανθρώπινο ορό με συσκευή μίας χρήσης που χρησιμοποιείται μαζί με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

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

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

Τα αντισώματα αντι-dsDNA του είδους των IgM ανιχνεύθηκαν στο 52% των ορών των ασθενών που έπασχαν από ΣΕΛ. Σε αντίθεση με τα IgG και τα IgA, τα IgM δεν έχουν συσχετιστεί με τη δραστηριότητα της νόσου. Παρ' όλα αυτά αποδείχθηκε ένας αρνητικός συσχετισμός υψηλής σημασίας, μεταξύ των IgM

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

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η συσκευή (ταινία) dsDNA-G είναι έτοιμη για χρήση με σκοπό τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG αντι- dsDNA στους αναλυτές CHORUS. Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA. Το υψηλής καθαρότητας αντιγόνο καθιλώνεται στη στερεά φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό.

Αφού πραγματοποιηθούν εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το συζυγές που αποτελείται από αντισώματα έναντι ανθρώπινων ανοσοσφαιρινών συζευγμένων με υπεροξειδάση αργιόραφανιδίων. Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το κυανό χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων που υπάρχουν στον ορό που εξετάζεται.

Οι ταινίες μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για να εκτελεστεί το τεστ στους αναλυτές Chorus.

Το kit Chorus dsDNA-G έχει βαθμονομηθεί ως προς τους ορούς αναφοράς που παρέχει το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ (CDC Atlanta).

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε UI/ml.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Αυτό το kit περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε εγκεκριμένα από την FDA τεστ, τόσο όσον αφορά την ανίχνευση του HbsAg όσο και για τα αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσματικό. Χρησιμοποιείτε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα παίρνοντας όλες τις προφυλάξεις που προβλέπονται από τους κανονισμούς ασφαλείας του εργαστηρίου.

Διάθεση αποβλήτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιούνται πρέπει να επεξεργάζονται ως μολυσματικά απόβλητα και στη συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

3. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μόλις τελειώσετε το τεστ.
4. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - a) το συζυγές και τα αντιδραστήρια ελέγχου περιέχουν φαινόλη
 - b) Το υπόστρωμα είναι όξινο

Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
5. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η ζώνη που έχει μολυνθεί θα πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση φέρτε τα σετ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και χρησιμοποιήστε τα μέσα σε 60 λεπτά.

1. **Απορρίψτε τις ταινίες όπου το υπόστρωμα (θέση 4) έχει γίνει μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο του οργάνου.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης του γραμμικού κώδικα να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων.
8. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
10. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή

μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.

11. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
12. Εισάγετε τον ορό που θα αναλυθεί (50 ul) στην κυψελίδα 1 του σετ με σιφώνιο (βλ. εικόνα).
13. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.
14. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με τον Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86032).

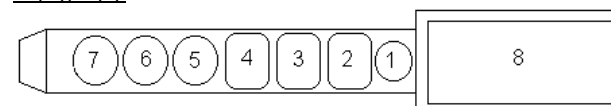
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86032/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86032).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86032/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Ευαισθητοποιημένη με dsDNA υψηλής καθαρότητας.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ

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: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει Tween-20 0,2% και Proclin 0.1%.

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

Χρήση: Αφήστε να ισορροπήσει μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζεστε και βάλτε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, που περιέχει γέλη πυριτίου, αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε την πιέζοντας το ειδικό σύστημα κλεισίματος. Αποθηκεύστε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG αντί-dsDNA και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG αντί-dsDNA και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Αποσταγμένο ή αποιονισμένο νερό
- Στάνταρντ υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λ.π.
- Μικροπιπέτες που αναρροφούν με ακρίβεια όγκους 50-200 µL
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την απόρριψη των δυνητικά μολυσματικών υλικών.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό 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 διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα αποτελείται από ορό που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και που έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους βασικούς κανονισμούς του εργαστηρίου. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C. Για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Αποφεύγετε τη χρήση αυτο-αποψυχόμενων ψυγείων για τη συντήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το καλά πριν το ρίξετε στην κυψελίδα. Η αδρανοποίηση με θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Υψηλά λιπαιμικά και ικτερικά δείγματα, καθώς και μολυσμένα δείγματα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

Το τεστ δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες,
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός 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. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την 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 ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αναλυτής Chorus υπολογίζει το αποτέλεσμα με βάση μια καμπύλη (ειδική για κάθε παρτίδα) που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη του αναλυτή. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε UI/ml (WHO/80).

Τα αποτελέσματα εξέτασης των αναλυόμενων δειγμάτων ορού μπορούν να ερμηνευθούν ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι > 30.0 IU/ml
ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι < 20.0 IU/ml
ΑΜΦΙΒΟΛΟ όταν το αποτέλεσμα είναι 20.0 - 30.0 IU/ml

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Όλα τα θετικά αποτελέσματα χρειάζονται μία προσεκτική ερμηνεία.

Το τεστ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτόνομα για κλινική διάγνωση. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει το ενδεχόμενο μόλυνσης.

Το αποτέλεσμα του τεστ πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί μαζί με κλινικά δεδομένα και από άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Ευρος Βαθμονομησης 10.0-150.0 IU/ml.

Για δείγματα >150.0 IU/ml επαναλάβετε τη δοκιμασία, προσαρώνοντας το δείγμα με Negative Control Sample Dient (PF83607- **δεν παρέχεται με το κιτ**).

13. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι αναμενόμενες τιμές στον φυσιολογικό πληθυσμό, οι οποίες προσδιορίστηκαν κατόπιν ανάλυσης 120 δειγμάτων ορού από υγιείς δότες, κυμαίνονται μεταξύ 10.0 και 19.8 IU/ml.

14. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία 5 δείγματα (2 αρνητικά, 1 στην τιμή κατωφλίου και 2 θετικά), στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγοντας (44 – 220 UI/ml)

Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml – 30 mg/ml)

Η παρουσία των παραπάνω ουσιών παρεμβολής στο δείγμα ορού δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα της δοκιμασίας προσδιορισμού.

15. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία δείγματα θετικά για PR-3, MPO, καρδιολιπίνη, γλοιαδίνη, AMA-M2, τρανσγλουταμινάση, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Ccnp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, και ASCA.

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

16. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Κατά τη διεξαγωγή δοκιμής αναλύθηκαν 159 δείγματα με το κιτ Diesse και με άλλο κιτ του εμπορίου.

Στους ακόλουθους πίνακες παρατίθενται τα δεδομένα που προέκυψαν από τη δοκιμή:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Σύνολο	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

97.2% CI_{95%}: 93.0-98.9

17. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

Παρασκευάζεται από:

DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.

Strada dei Laghi 39

53035 Monteriggioni (SIENA)

Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS dsDNA-G

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG anti- dsDNA

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos contra el DNA pertenecen al grupo de anticuerpos antinucleares (ANA) los cuales han sido observados en varias enfermedades autoinmunes. Los anticuerpos que reaccionan con el ADN nativo de doble cadena son específicos para el lupus eritematoso sistémico (LES) y se observan en aproximadamente el 50-80% de los pacientes. Los anticuerpos contra el dsDNA se observan durante las fases activas del LES. La cantidad de concentración en el suero se correlaciona positivamente con la severidad de la enfermedad. Debido a esto, es importante la detección de estos anticuerpos para el diagnóstico y la monitorización clínica del LES. En consecuencia ha sido establecido como 1 de los 11 criterios del ACR (American College of Rheumatology) para el diagnóstico del LES. La mayoría de los pacientes con LES muestran anticuerpos de la clase IgG contra el dsDNA. Estos autoanticuerpos están asociados con el lupus nefrítico. Aproximadamente el 30% de los pacientes con LES desarrollan adicionalmente anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgA. Se ha sugerido que la presencia de estos anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgA pueda definir un cierto subconjunto de pacientes con LES. De hecho, hay estudios que demuestran la asociación de esta subclase con ciertos parámetros de la actividad de la enfermedad, como un ratio de sedimentación eritrocitaria elevado o el consumo del componente del complemento C3, así como los parámetros clínicos de vasculitis cutánea, necrosis acral y eritema. No se encontró ninguna asociación con nefritis y artritis. Los anticuerpos anti-dsDNA de la clase IgM se encontraron en el 52% de los sueros de los pacientes con LES. En contraste con los autoanticuerpos de la clase IgG e IgA, los anticuerpos de la subclase IgM no correlacionan con la actividad de la enfermedad. No obstante, se demostró una correlación negativa elevadamente significativa entre los anticuerpos anti-dsDNA IgM y el lupus nefrítico, incluyendo sus parámetros de

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

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo dsDNA-G es listo para su uso para la detección de los anticuerpos IgG anti dsDNA, en los equipos CHORUS. El test se basa en la técnica ELISA

El antígeno, elevadamente purificado, está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.

Después de lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, se efectúa la incubación con el conjugado constituido por anticuerpos monoclonales, altamente específicos para las anti-inmunoglobulinas humanas conjugadas con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido es eliminado y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa (TMB).

El color azul 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.

El kit Chorus dsDNA-G está calibrado con referencia a los sueros suministrados por CDC Atlanta. Los resultados están expresados en UI/ml.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y dieron 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 completa garantía 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.

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavar las manos a fondo después de terminar la prueba.
4. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado y los controles contienen fenol
 - b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante

- 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.
- El vertido 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 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. 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 todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

- Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
- Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
- Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado, no utilizar dispositivos en los que falte algún reactivo.
- Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario.
- Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
- No modificar el código de barras colocado en la asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
- Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
- Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
- No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
- El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
- Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga partículas extrañas.
- Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
- No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.
- Comprobar que el aparato esté contactado con la Washing buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86032).

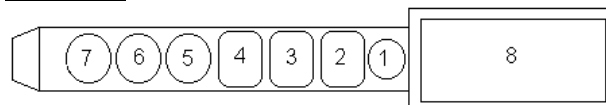
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86032).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86032/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con dsDNA altamente purificado.

Posición 5: POCILLO

No sensibilizado.

Posición 4: SUBSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución proteica con Tween-20 al 0.2% y Proclin al 0.1%.

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 ml**

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

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

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

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVECONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- 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. 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 térmica puede dar resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas o contaminadas. El test no puede aplicarse al plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros 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 Analíticas.
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. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

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 proporciona un resultado en IU/ml (WHO/80) calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La prueba puede ser interpretada como sigue:

POSITIVO cuando el resultado es > 30.0 IU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 20.0 IU/ml

DUDOSO/EQUIVOCO cuando el resultado es entre 20.0 y 30.0 IU/ml

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

11. LIMITACIONES

Todos los resultados positivos de la prueba necesitan ser cuidadosamente interpretados.

Este Test no debe ser la única prueba utilizada por el diagnóstico clínico. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.

El resultado de la prueba debe ser evaluado junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 10.0-150.0 IU/ml.

Para muestras >150.0 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 10.0 y 19.8 IU/mL.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

5 muestras fueron analizadas (2 negativas, 1 a Cut Off y 2 positivas) a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

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

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

15. REACCIONES CRUZADAS

Se han probado muestras positivas a PR-3, MPO, Cardiolipin, Gliadin, AMA-M2, Transglutaminasa, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Cenp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, y ASCA.

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

16. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba 159 muestras fueron analizadas con kit Diesse y con otro método comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Total	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

97.2% CI_{95%}: 93.0-98.9

17. REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

Fabricado por

DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.

Strada dei Laghi 39

53035 Monteriggioni (SIENA)

Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS dsDNA-G

Pour la détermination quantitative des anticorps IgG anti-dsDNA

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

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

2. INTRODUCTION

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

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

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

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

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

3. PRINCIPE DU TEST

Le dispositif dsDNA-G est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-dsDNA dans les appareils CHORUS. Le test se base sur le principe ELISA. L'antigène, hautement purifié, se lie à la phase solide. En le faisant incubier 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 monoclonaux hautement spécifiques pour les anti-immunoglobulines humaines conjuguées avec du peroxyde de raifort.

On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat pour la peroxydase.

La couleur bleue 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.

Le kit Chorus dsDNA-G est calibré par rapport à des sérums fournis par le Centre pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC) d'Atlanta. Les résultats sont exprimés en unités arbitraires (IU/ml).

4. PRECAUTIONS

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 le recherche de HbsAg que pour celles des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Etant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériel 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 calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

18. Ne pas pipeter avec la bouche.
19. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et durant l'essai.
20. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
21. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
 - c) Le conjugué et les contrôles contiennent du phénol
 - d) Le substrat est acide.

Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, les laver à grande eau.

22. 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. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
23. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant; la zone contaminée devra être décontaminée 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.

15. Eliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.

16. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
17. 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.
18. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
19. S'assurer que l'instrument Chorus est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
20. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif à fin que l'instrument puisse le lire correctement.
21. Eviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
22. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
23. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
24. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
25. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
26. Pipeter le sérum examiné (50 µl) dans le puits 1 du dispositif (voir la figure).
27. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
28. **Controller si l'instrument a la connexion avec la Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86032).

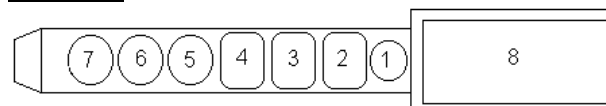
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86032/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86032).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86032/12).

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec un dsDNA hautement purifié.

Position 5 : PUIITS

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 ECHANTILLONS

Contenu: solution protéique contenant du Tween-20 à 0.2% et du Proclin à 0.1%.

Position 2 : CONJUGUE

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

Position 1 : PUIITS VIDE

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

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR

1 x 0.175 ml

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-dsDNA et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.425 ml

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-dsDNA et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATERIEL NECESSAIRE 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)
- 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. MODALITES DE CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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 section 9 : validation du test).

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

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
CONTROLE POSITIF	8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ECHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé comme recommandé dans les procédures standard de laboratoire. 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. Peut subir jusqu'à un maximum de trois décongelations. L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations. Eviter 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.

Des échantillons fortement lipémiques, ictériques, ou contaminés ne devraient pas être utilisés.

Le test ne s'applique pas au plasma humain.

8. PROCEDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres 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 no. 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. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu (on l'utilise comme décrit dans le Manuel d'utilisation du CHORUS). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors de la fourchette d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents viennent 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. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'appareil Chorus fournit le résultat en IU/ml (WHO/80) résultat calculé sur base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Les résultats peuvent être interprétés comme suit:

POSITIF quand le résultat est > 30.0 IU/ml

NEGATIF quand le résultat est < 20.0 IU/ml

DOUTEUX / EQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 20.0 et 30.0 IU/ml

En cas de résultat incertain, refaire le test. Si le résultat reste douteux, répéter l'échantillon.

11. LIMITES DU TEST

Chaque résultat positif oblige à faire une interprétation attentive.

Le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique. Un résultat négatif n'exclut pas l'éventualité d'une infection.

Le résultat du test doit toujours être évalué en tenant compte des données cliniques et provenant d'autres procédures diagnostiques.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'Etalonnage : 10.0-150.0 IU/ml.

Pour les échantillons >150.0 IU/ml répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fourni avec le kit).

13. INTERVALLES DE CONTRÔLE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées après l'examen de 120 sérums de donneurs sains, étaient comprises entre 10.0 et 19.8 IU/ml.

14. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

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

Facteur rhumatoïde (44 – 220 UI/ml)

Bilirubine (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Triglycérides (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Hémoglobine (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

15. RÉACTIONS CROISÉES

Des échantillons positifs aux PR-3, MPO, cardiolipides, gliadine, AMA-M2, transglutaminases, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Cenp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, et ASCA ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

16. SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

Au cours d'un essai, 159 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 :

		Contrôle		
		+	-	Total
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Total	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique):

97.2% CI_{95%}: 93.0-98.9

17. PRÉCISION

Echantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne (IU/ml)	CV%	Moyenne (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Echantillon	INTER-LOTS		ENTRE INSTRUMENTS	
	Moyenne (IU/ml)	CV%	Moyenne (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. BIBLIOGRAPHIE

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.

3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.

4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

Fabriqué par

DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.

Strada dei Laghi 39

53035 Monteriggioni (SIENA)

Italy





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS dsDNA-G

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti- dsDNA

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

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

2. INTRODUÇÃO

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

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

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

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

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo dsDNA-G está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG anti-dsDNA, nos instrumentos CHORUS. O teste baseia-se no princípio ELISA. O antígeno, altamente purificado, é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por incubação com soro humano diluído.

Depois das lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com a conjugação constituída por anticorpos monoclonais, altamente específicos para as anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidases de rábano.

Elimina-se o conjugado que não se ligou e junta-se o substrato para a peroxidase.

A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro em ensaio.

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

O Chorus dsDNA-G é calibrado com referência aos soros fornecidos pelo CDC (Atlanta). O resultado é expresso em IU/ml.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para A presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo, nenhum teste diagnóstico garante a ausência dos agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana precisam ser considerados potencialmente infecciosos. 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.

Precauções para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar muito bem as mãos no final do teste.
4. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado e os controlos contêm fenol
 - b) O substrato é ácido
 Em caso de contacto desses reagentes com os olhos e a pele, lavar abundantemente com água.
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 afectada 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 infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

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

- Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
- Adicionando a amostra ao poço verifique se está distribuído perfeitamente no fundo.
- Controlar a presença dos reagentes nas cavidades do dispositivo e a integridade do dispositivo mesmo; não usar dispositivos que, ao controle visual, faltam alguns reagentes.
- Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
- Controlar que o instrumento Chorus esteja programado correctamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
- Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, permitindo uma correcta leitura pelo equipamento.
- Evitar o uso de congeladores No Frost para a conservação das amostras.
- Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento.
- Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
- Amostras fortemente hemolisadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
- Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus, verificar que o poço de reacção não contenha corpos estranhos.
- Pipetar o soro em teste (50 µL) no poço 1 do dispositivo (ver a figura).
- Não usar o dispositivo depois da data de validade.
- Verificar se o instrumento tem a ligação ao Washing Buffer Autoimmunity (REF 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86032).

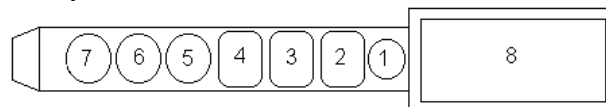
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86032).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86032/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA sensibilizado com dsDNA altamente purificado

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica que contém Tween-20 0.2% e Proclin 0.1%.

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticuerpos monoclonais anti-IgG humanos marcados com peroxidase, em uma solução tampão fosfato com fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.

Posição 1: POÇO VAZIO no qual o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

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

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

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

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Água destilada ou desionizada
- 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 infecciosos

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 refazer a calibração e verificar a exactidão 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

A amostra é um soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório. 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 do teste. Inactivação de calor pode levar a resultados erróneos. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados. Não devem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictéricas ou contaminadas. Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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. Controlar 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. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exactidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Instruções do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efectuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente. Se o resultado do soro de controlo continuar fora do intervalo de aceitação, contactar il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus fornece um resultado em IU/ml (WHO/80), calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

Os resultados podem ser assim interpretados:

POSITIVO quando o resultado for > 30.0 IU/ml

NEGATIVO quando o resultado for < 20.0 IU/ml

INCERTO quando o resultado estiver entre 20.0 e 30.0 IU/ml

Repetir o teste em caso de resultado incerto. Se o resultado continua incerto, repetir a colheita.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os resultados positivos precisam de uma interpretação cuidadosa.

O teste por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. Um resultado negativo não significa que não possa existir uma infecção.

O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados clínicos e com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 10.0-150.0 IU/ml.

Para amostras >150.0 IU/ml repita o teste pré-diluindo a amostra em 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 dadores saudáveis, estavam compreendidos entre 10.0 e 19.8 IU/ml.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

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

Factor Reumatóide (44 UI/ml – 220 UI/ml)
Bilirrubina (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

15. REACÇÕES CRUZADAS

Amostras, positivas em PR-3, MPO, Cardiolipin, Gliadin, AMA-M2, Transglutaminase, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Cenp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, e ASCA foram testadas.

Não foram detectadas reacções cruzadas significativas.

16. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Numa experimentação 159 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Total	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

97.2% CI_{95%}: 93.0-98.9

17. PRECISÃO

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. BIBLIOGRAFIA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

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





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS dsDNA-G

Pentru determinarea cantitativa a anticorpilor IgG anti-dsDNA

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea cantitativa a anticorpilor IgG anti-dsDNA in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele CHORUS si CHORUS TRIO.

2. INTRODUCERE

Anticorpii care se leaga de DNA apartin grupului de anticorpi anti-nucleari (ANA) care au fost observati in cateva boli autoimune. Anticorpii care reactioneaza cu DNA nativ dublu catenar (ds) sunt vazuti ca fiind specifici pentru lupus eritematos sistemic (SLE) si au fost observati la aproximativ 50-80% pacienti

Anticorpii impotriva dsDNA se gasesc in timpul fazei active a SLE. Concentratia de ser este pozitiv corelata cu severitatea bolii. Astfel, detectarea acestor anticorpi este importanta in diagnosticarea si monitorizarea clinica a SLE. In mod consecvent s-a stabilit ca fiind una din cele 11 ACR-criterii in diagnosticarea SLE.

Cei mai multi pacienti cu SLE afisaza anticorpi IgG impotriva dsDNA. Acesti anticorpi sunt asociati cu lupus nefritis. Aproximativ 30% din pacientii cu SLE dezvolta anticorpi IgA anti-dsDNA in plus. Au existat supozitii ca prezenta anticorpilor IgA anti-dsDNA pot defini o anumita subclasa din pacientii cu SLE. Intr-adevar studiile au demonstrat ca asocierea acestei subclase cu anumiti parametri ai bolii, cum ar fi rata de sedimentare a eritrocitelor elevate, sau un consum al componentei complementare C3, precum si parametrii clinici ai vasculitei cutanate, necrozei acrale si a eritemei, in timp ce nu s-a observat nici o asociere la nefrita si artrita.

Anticorpii IgM anti-dsDNA s-au gasit in 52% din serurile pacientilor cu SLE. In contrast cu anticorpii IgG si IgA, subclasa de anticorpi IgM nu coreleaza cu boala. S-a demonstrat o corelare negativa semnificativa intre anticorpii IgM anti-dsDNA si lupus nefritis, incluzand parametrii laboratorului. Prin urmare anticorpii IgM anti-dsDNA pot indica un subset al pacientilor cu lupus fiind protejati impotriva riscului de dezvoltare a nefritei.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivele dsDNA-G sunt gata de utilizare pentru testarea anticorpilor impotriva dsDNA pe instrumentele CHORUS. Testul

are la baza metoda ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Antigenul, puternic purificat este legat de faza solida. Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubare cu ser uman diluat.

Dupa spalare, pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie se efectueaza incubarea cu conjugat, compus din anticorpi monoclonali, puternic specifici imunoglobulinelor anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean.

Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza.

Culoarea albastra care se dezvolta este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

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

Chorus dsDNA-G este calibrat fata de serurile de referinta de la CDC (Atlanta). Rezultatele sunt exprimate in IU/ml.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul CHORUS.
4. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante daunatoare sau iritante:
 - a) Conjugatul si controalele contin fenol
 - b) Substratul este acid

In cazul in care vreunul dintre reactivi intra in contact cu pielea sau cu ochii, spalati zona temeinic cu apa.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1.0%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie

tamponata, de exemplu, cu 1,0% soluție de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone în care s-au varsat substanțe conținând acid, cu excepția cazului în care acea zonă a fost mai întâi stearsă și uscată. Materialele utilizate pentru curățarea picăturilor, inclusiv manusile, trebuie îndepărtate ca fiind deseuri potențial bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce conțin hipoclorit de sodiu.

Măsuri de Precauție Analitice

Înainte de utilizare, lăsați dispozitivele să ajungă la temperatura camerei (18-30°C); utilizați-le în decurs de 60 de minute.

1. **Îndepărtați dispozitivele al căror substrat (godeul 4) este de colorație albastră.**
2. La adăugarea probei în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fundul godeului.
3. Verificați ca reactivii să existe în dispozitiv, și ca dispozitivul să nu fie deteriorat; nu utilizați dispozitive carora le lipsește vreun reactiv.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii împreună cu instrumentul Chorus; instrucțiunile de utilizare trebuie urmate cu atenție și trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificați ca instrumentul Chorus să fie setat în mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
6. Nu deteriorați codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului să îl citească în mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitați utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual în instrument.
9. În timpul depozitării și utilizării, nu expuneți dispozitivele la lumina puternică sau la vapori de hipoclorit.
10. Utilizarea probelor puternic hemolizate sau a probelor prezentând contaminare microbiană, pot constitui surse de indicare a unei erori.
11. Înainte de a introduce dispozitivele în instrument, verificați ca godeul de reacție să nu conțină corpuri străine.
12. Pipetați serul de testare (50 µl) în godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
13. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
14. **Asigurați-vă ca instrumentul este conectat la Tampon de Spălare Autoimunitate COD 86004.**

5. COMPONENTA KITULUI ȘI PREGĂTIREA REACTIVILOR

Kitul conține suficiente dispozitive și substanțe pentru efectuarea a 36 de determinări (REF 86032).

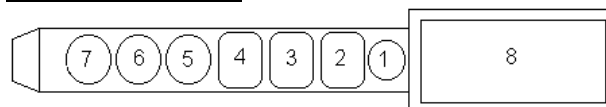
Kitul conține suficiente dispozitive și substanțe pentru efectuarea a 12 de determinări (REF 86032/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare conținând 6 dispozitive (REF 86032).

2 pachete, fiecare conținând 6 dispozitive (REF 86032/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spațiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII captusit cu dsDNA puternic purificat

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL și H₂O₂ 0.01% stabilizat în 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Soluție proteică conținând Tween-20 0.2% și Proclin 0.1%.

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi monoclonali anti-umani IgG tapetați cu peroxidază din hrean, în soluție tampon fosfat conținând 0.05% fenol și 0.02% Bronidox.

Pozitia 1: GODEU GOL

În care operatorul trebuie să introducă serul nediluat

Utilizare: lăsați un pachet să ajungă la temperatura camerei, deschideți pachetul și scoateți dispozitivele necesare; repuneți-le pe celelalte în pungă împreună cu pliculețul cu silica gel, scoateți aerul din pungă și **sigilați** prin presarea sistemului de închidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Continut: Ser uman diluat conținând IgG anticorpi anti-dsDNA și conservant. În formă lichidă, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 0.425 ml

Continut: Ser uman diluat conținând IgG anticorpi anti-dsDNA și conservant. În formă lichidă, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Apa distilată sau deionizată
- Sticlărie obișnuită de laborator: cilindri, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exactă a 50-200 µl de soluție
- Manusii de unică folosință
- Soluție de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectioase

6. PASTRAREA ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. În cazul pastrării la o temperatură necorespunzătoare, calibrarea trebuie

repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).
Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din ser recoltat normal din vena si manevrata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator. Serul proaspat poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C si poate fi decongelat de maxim 3 ori. Nu tineti probele in frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare. Neutralizarea la caldura poate duce la rezultate eronate. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

Probele puternic lipemice, icterice, hemolizate sau contaminate trebuie evitate.

Testul nu poate fi aplicat pentru plasma.

8. PROCEDURA ANALIZEI

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

9. VALIDAREA TESTULUI

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

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprima rezultatele in IU/ml (WHO/80) calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

Rezultatele pot fi interpretate dupa cum urmeaza:

POZITIVE: cand concentratia din proba este > 30.0 IU/ml

NEGATIVE: cand concentratia din proba este < 20.0 IU/ml

INCERTE: pentru toate valorile intre 20.0 si 30.0 IU/ml

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

11. LIMITARI

Toate rezultatele pozitive necesita o interpretare atenta.

Testul nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele negative nu exclud neaparat o eventuala infectie.

Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare 10.0-150.0 IU/ml.

Pentru probe > 150.0 IU/ml repetati testul diluand proba cu Control Negativ/Diluantul Probei (PF83607 – **care nu este furnizat impreuna cu kitul**).

13. ARIA DE REFERINTA

In randul populatiei normale, valorile asteptate, care au fost determinate prin examinarea a 120 de seruri provenite de la donatori sanatosi, s-au situat intre 10.0 si 19.8 IU/ml.

14. SPECIFICITATEA ANALITICA

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

Factor Reumatoid (44 IU/ml – 220 IU/ml)
Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Trigliceride (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

15. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate probe pozitive la: PR-3, MPO, Cardiolipina, Gliadina, AMA-M2, Transglutaminase, SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Cenp-B, Jo-1, U1-70, snRNP, si ASCA.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

16. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

In cadrul unui experiment, 159 de probe au fost testate cu kitul Diesse si cu alt kit disponibil pe piata.

Rezultatele sunt redade in tabelul urmator:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	16	4	20
	-	1	138	139
	Total	17	142	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului):

94.1% CI_{95%}: 72.9-98.8

Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului):

97.2% CI_{95%}: 93.0-98.9

17. PRECIZIA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	14.3	5.5	16.2	8.6
2	15.6	4.5	17.5	5.5
3	16.0	8.7	17.9	8.4
4	19.3	5.1	18.9	9.7
5	22.3	7.3	27.6	4.9
6	27.0	5.9	31.2	9.4
7	30.3	4.7	35.7	6.8
8	39.7	9.4	45.5	8.1

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	13.1	5.5	13.1	0.9
2	16.1	6.0	16.0	4.2
3	15.6	5.8	15.6	4.9
4	20.3	0.5	20.3	2.2
5	25.2	4.0	25.2	4.5
6	26.6	7.1	26.6	0.5
7	32.0	8.4	32.0	4.7
8	43.7	8.1	43.7	1.7

18. BIBLIOGRAFIE

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.

	Data fabricatiei
	A se folosi pana la
	A nu se refolosi
	Atentie, consultati documentele insotitoare
	Productator
	Continunt sufficient pt <n> teste
	Limita da temperatura
	Pentru utilizare consultati instructiunile
	Risk biologic
	Numar de catalog
	Dizpozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Lot

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



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