

CHORUS

LKM-1

REF 86080

REF 86080/12



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Via delle Rose, 10
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	16





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS LKM-1

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-microsomi epatici e renali (LKM)

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-microsomi epatici e renali (LKM) nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

L'epatite autoimmune (AIH) è una malattia epatica progressiva di origine sconosciuta, che risponde bene a terapia immunosoppressiva, ma che, se non curata, ha una prognosi negativa. Una diagnosi sicura e precoce riveste pertanto un ruolo di fondamentale importanza. L'AIH è caratterizzata dal quadro istologico di un'epatite periportale in assenza di marker virali, da un'ipergammaglobulinemia e nella maggioranza dei pazienti, dalla presenza di autoanticorpi nel siero. Gli anticorpi anti-nucleo (ANA), gli anticorpi anti-muscolatura liscia (SMA, smooth muscle antibodies), gli anticorpi anti-microsomi epatici e renali (LKM, liver-kidney microsomes) e gli anticorpi anti-antigene epatico solubile (SLA, soluble liver antigen), sono anticorpi marcatori per l'AIH. Il 52% dei pazienti AIH è ANA e/o SMA positivo, il 20% SLA positivo e il 3% presenta anticorpi anti-LKM-1. Tutti questi anticorpi sono molto importanti per la diagnosi di un'AIH, tuttavia fino ad ora sono risultati altamente specifici per l'AIH solo gli autoanticorpi anti-SLA. Gli ANA/SMA vengono riscontrati nel 10-15% dei pazienti affetti da epatite virale o altre malattie immunomediate. Gli LKM-1 si trovano anche in pazienti con epatite C.

Gli anticorpi anti-LKM possono essere suddivisi in tre tipi in relazione ai rispettivi antigeni target. Gli anticorpi anti-LKM-1 sono diretti contro il citocromo p450 IID6, una proteina citoplasmatica di 50 kDa che si trova negli epatociti e nei tubuli renali prossimali. Gli anticorpi LKM-2 sono associati all'epatite indotta da ticrynafen. L'antigene target degli LKM-2 è il citocromo p450 IIC9, un isoenzima del citocromo p450, che induce l'ossidazione metabolica del farmaco. Gli anticorpi anti-LKM-3 sono associati all'epatite cronica D e il loro antigene target è l'UDP-glucuronosil-transferasi.

L'AIH associata ad anti-LKM-1 insorge prevalentemente in età infantile, soprattutto nelle bambine di età compresa fra 2 e 14 anni. La determinazione degli anticorpi anti-LKM-1 è quindi di fondamentale importanza in pediatria.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus LKM-1 è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-microsomi epatici e renali (LKM), negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Avvertenze analitiche

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

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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86080).

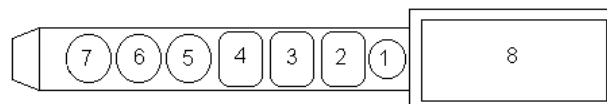
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86080/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86080).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86080/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con citocromo p450 IID6 ricombinante.

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 in Tris, salina e contenente sodio azide.

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgG umane marcati con perossidasi.

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

Contenuto: Siero umano diluito. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

Contenuto: Siero umano diluito. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del

risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

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

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Unità Arbitrarie (AU/ml) calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO: quando il risultato è > 18 AU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0-300 AU/ml.

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

13. SENSIBILITA' ANALITICA

La sensibilità analitica di questo kit è di 3.0 AU/ml.

14. SENSIBILITA' E SPECIFICITA'

Non è stata osservata alcuna reazione incrociata con altri autoantigeni. Gli anticorpi anti-LKM-1 mostrano una specificità diagnostica del >99% per l'epatite autoimmune del tipo 2 ed una sensibilità diagnostica del 84%.

15. LINEARITA'

Sono stati testati con questo metodo dei sieri selezionati ed è stata osservata una diluizione lineare. Tuttavia, a causa della natura eterogenea degli autoanticorpi umani, potrebbero essere presenti dei sieri che non seguono questa regola.

Campione no.	Fattore di diluizione	Concentrazione misurata (AU/ml)	Concentrazione attesa (AU/ml)	Recupero (%)
1	Non diluito	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	Non diluito	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra lotti e tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. BIBLIOGRAFIA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS LKM-1

For the semiquantitative determination of IgG antibodies anti-liver-kidney microsomes (LKM)

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgG class antibodies against liver-kidney microsomes (LKM).

in human serum, using a disposable device applied on the chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic progressive liver disease of unknown origin that responds well to immunosuppressive therapy, but has a poor prognosis if untreated. Early and accurate diagnosis is therefore of great importance. AIH is characterized by histological features of periportal hepatitis in the absence of viral markers, by hypergammaglobulinemia and, in the majority of patients, by the presence of autoantibodies in serum. Anti-nuclear antibodies (ANA), smooth muscle antibodies (SMA), anti-liver kidney microsomal antibodies (LKM) and antibodies against soluble liver antigen (SLA) are marker autoantibodies for AIH. 52% of AIH patients are positive for ANA and/or SMA, 20% for SLA and 3% for LKM-1. These antibodies are of diagnostic value for AIH but the only autoantibodies highly specific for AIH are SLA. ANA/SMA also occur in 10-15% of patients with viral hepatitis and other immune-mediated diseases. LKM-1 are also associated with hepatitis C.

Three types of LKM antibodies can be distinguished according to the target antigens. LKM-1 antibodies are directed against cytochrome p450 IID6, a 50 kDa cytoplasmic protein found in hepatocytes and renal proximal tubular cells. LKM-2 antibodies are associated with tienafen (tienilic acid)- induced hepatitis. The target antigen is cytochrome p450 IIC9, a cytochrome p450 isoenzyme that catalyzes the metabolic oxidation of the drug. LKM-3 antibodies are associated with chronic hepatitis D. The target antigen is UDP-1 glucuronosyl transferase.

Anti-LKM-1 associated AIH predominantly occurs in girls between 2 and 14 years of age, thus determination of LKM-1 is very important in pediatrics.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus LKM-1 device is ready to use for the detection of IgG antibodies against liver-kidney microsomes (LKM), in the Chorus/ Chorus TRIO instruments.

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

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

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

The results are expressed in Arbitrary Units (AU/ml).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

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

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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86080).

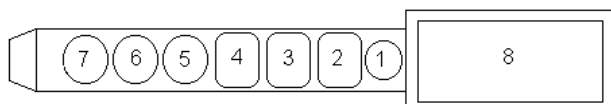
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86080/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86080).

2 packages each containing 6 devices (REF 86080/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with recombinant human cytochrome p450 IID6.

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 in Tris, saline, with sodium azide.

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

in which undiluted serum must be added

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

Contents: Diluted human serum. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

Contents: Diluted human serum. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in Arbitrary Units (AU/ml) calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

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

POSITIVE: when the result is > 18 AU/ml

NEGATIVE: when the result is < 12 AU/ml

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

If the result is doubtful/equivocal, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, collect a new serum sample.

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0-300 AU/ml.

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

13. ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of this kit has been found at 3.0 AU/ml.

14. SENSITIVITY AND SPECIFICITY

No cross reactivities to other autoantigens have been found. Anti-LKM-1 antibodies show a diagnostic specificity of >99% for autoimmune hepatitis type 2; the diagnostic sensitivity is 84%.

15. LINEARITY

Chosen sera have been tested with this kit and found to dilute linearly. However, due to the heterogeneous nature of human autoantibodies there might be samples that do not follow this rule.

Sample no.	Dilution factor	Measured concentration (AU/ml)	Expected concentration (AU/ml)	Recovery (%)
1	Undiluted	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	Undiluted	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between lots and instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. REFERENCES

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.

5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS LKM-1

Pro semikvantitativní stanovení IgG protilátek proti mikrozómům jater a ledvin (LKM)

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgG protilátek proti mikrozómům jater a ledvin (LKM) v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Autoimunitní hepatitida (AIH) je progresivní onemocnění jater neznámého původu, které dobře reaguje na imunosupresivní léčbu, ale které má, pokud se neléčí, velmi negativní prognózu. Bezpečná a včasná diagnóza hraje v takovém případě velmi významnou roli. Onemocnění AIH je charakterizováno histologickým obrazem periportální hepatitidy bez přítomnosti virových markerů, hypergamaglobulinémií a u většiny pacientů přítomností autoprotilátek v séru. Antijaderné protilátky, protilátky proti hladkým svalům (SMA, smooth muscle antibodies), protilátky proti mikrozómům jater a ledvin (LKM, liver-kidney microsomes) a protilátky proti rozpustnému antigenu jater (SLA, soluble liver antigen) jsou protilátky značící AIH. 52 % pacientů s AIH je pozitivních na ANA a/nebo SMA, 20 % pozitivní na SLA a 3 % vykazují protilátky proti LKM-1. Všechny tyto protilátky jsou velmi důležité pro diagnózu AIH, nicméně v současné době jsou vysoce specifické pro AIH pouze autoprotilátky anti-SLA. Protilátky ANA/SMA jsou zjištěny u 10-15 % pacientů postižených virovou hepatitidou či jinými imunitně mediovánými onemocněními. LKM-1 lze zjistit rovněž u pacientů s hepatitidou typu C.

Protilátky anti-LKM se dělí na tři typy podle příslušných cílových antigenů. Protilátky anti-LKM-1 jsou zaměřeny proti cytochromu p450 IID6, cytoplasmatickému proteinu o 50 kDa, který se vyskytuje v hepatocytech a v proximálních tubulech ledvin. Protilátky LKM-2 jsou spojované s hepatitidou vyvolanou ticrynafelem. Cílovým antigenem u LKM-2 je cytochrom p450 IIC9, izoenzym cytochromu p450, který vyvolává metabolickou oxidaci léku. Protilátky anti-LKM-3 jsou spojovány s chronickou hepatitidou typu D a jejich cílovým antigenem je UDP-glukuronát transferáza.

Onemocnění AIH spojené s anti-LKM-1 vzniká převážně v dětském věku, a to především u dívek mezi 2. a 14. rokem. Stanovení protilátek anti-LKM-1 je tedy velmi důležité v pediatrii.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus LKM-1 je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti mikrozómům jater a ledvin (LKM), v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi.

Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se provede inkubace s konjugátem složeným z anti-lidských imunoglobulinů konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Konjugát, který nereagoval, je eliminován a přidá se peroxidázový substrát. 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 TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Arbitrární jednotky (AU/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 přítomna, 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 / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
10. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% 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 s obsahem chlornanu sodného nevracíte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

13. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
14. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
15. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
16. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze zařízení).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
20. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
21. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
22. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
23. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
24. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86080).

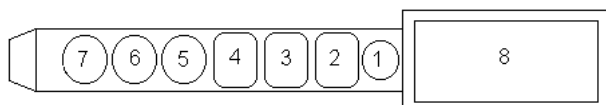
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86080/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86080).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86080/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená rekombinantním cytochromem p450 IID6

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Bílkovinný roztok v Tris, solný, s azidem sodným

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: monoklonální anti-lidské protilátky IgG značené křenovou peroxidázou.

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

Obsahuje: Naředěné lidské sérum. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

Obsahuje: Naředěné lidské sérum. 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
- Zařízení Chorus/Chorus TRIO
- 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

Reagenty je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagenty 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.

Reagenty 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 získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20 °C.

Rozmrazovat se smí maximálně 3 krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

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. Umístěte nástroje do zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

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

Zařízení Chorus/Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v Arbitrárních Jednotkách (AU/ml), vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12 AU/ml

SPORNÉ/NEJASNÉ: PRO VŠECHNY HODNOTY MEZI 12 a 18 AU/ml

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

11. OMEZENÍ

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

Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 3.0-300 AU/ml.

Pro vzorky > 300 AU/ml znova vzorek otestujte naředěný v ředidlo pro negativní kontrolní vzorek (PF83607 – se v rámci soupravy nedodává).

13. ANALYTICKÁ CITLIVOST

Analytická citlivost této sady je 3.0 AU/ml.

14. CITLIVOST A SPECIFITA

Nebyly zjištěny žádné zkřížené reakce s jinými autoantigeny. Protilátky anti-LKM-1 vykazují diagnostickou specifitu >99 % v případě autoimunitní hepatitidy typu 2 a 84% diagnostickou citlivost.

15. LINEARITA

Touto metodou byla testována vybraná séra a bylo sledováno lineární ředění. Ovšem z důvodu heterogenní povahy lidských autoprotiátů by se mohla vyskytovat rovněž séra, která se tímto pravidlem neřídí.

Vzorek č.	Ředící faktor	Změřená koncentrace (AU/ml)	Očekávaná koncentrace (AU/ml)	Výtěžnost (%)
1	Neředěný	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	Neředěný	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi šaržemi a Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (AU/ml)	CV%	Průměr (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.

4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS LKM-1

**Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG αντί-μικροσωμάτων ήπατος-
νεφρού (LKM)**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG αντί-μικροσωμάτων ήπατος-νεφρού (LKM) στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα (AIH) είναι μία προοδευτική ηπατική νόσος αγνώστου αιτιολογίας, που ανταποκρίνεται ικανοποιητικά στην ανοσοκατασταλτική αγωγή, αλλά η οποία, σε περίπτωση που αφαιρεθεί χωρίς θεραπεία, έχει ως αποτέλεσμα μία αρνητική πρόγνωση. Γι' αυτό τον λόγο μία πρόωγη και σίγουρη διάγνωση παίζει πολύ σπουδαίο ρόλο. Η AIH χαρακτηρίζεται από την ιστολογική εικόνα μίας περιτυλαίας ηπατίτιδας με απουσία ιικών δεικτών (marker), από υπεργασμασφαιριναιμία και, στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών, από την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό. Τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), τα αντισώματα κατά των λείων μυών (SMA, smooth muscle antibodies), τα αντισώματα αντι-μικροσωμάτων ήπατος-νεφρού (LKM, liver-kidney microsomes) και τα αντισώματα έναντι του διαλυτού ηπατικού αντιγόνου (SLA, soluble liver antigen), είναι αντισώματα δείκτες για την AIH. Το 52% των ασθενών είναι AIH και ANA και/ή SMA θετικοί, το 20% SLA θετικοί και το 3% παρουσιάζει αντισώματα αντι-LKM-1. Όλα αυτά τα αντισώματα είναι πολύ σημαντικά στη διάγνωση της AIH. Παρ' όλα αυτά μόνο τα αυτοαντισώματα αντι-SLA αποδείχθηκαν μέχρι τώρα, ειδικά σε υψηλό βαθμό για την AIH. Τα ANA/SMA ανιχνεύονται στο 10-15% των ασθενών με λοιμώδη ηπατίτιδα ή με άλλες νόσους με κυτταρική ανοσοαπόκριση (ανοσοποιητικές παθήσεις). Τα LKM-1 ανιχνεύονται και στους ασθενείς που πάσχουν από ηπατίτιδα C.

Τα αντισώματα αντι-LKM μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις τύπους ανάλογα με τα αντίστοιχα αντιγόνα στόχους (target) τους. Τα αντισώματα αντι-LKM-1 κατευθύνονται εναντίον του κυτοχρώματος p450 IID6, μία κυτοπλασματική πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 50 kDa που βρίσκεται στα ηπατοκύτταρα και στους εγγύς νεφρικούς σωλήνες. Τα αντισώματα LKM-2

συσχετίζονται με την ηπατίτιδα που προκαλείται από το ticrynafen. Το αντιγόνο στόχος (target) των LKM-2 είναι το κυτόχρωμα p450 IIC9, ένα ισόένζυμο του κυτοχρώματος p450, που προκαλεί την μεταβολική οξείδωση του φαρμάκου. Τα αντισώματα αντι-LKM-3 συσχετίζονται με τη χρόνια ηπατίτιδα D. Το αντιγόνο στόχος τους είναι η UDP-γλυκουρονοσιλ-τρανσφεράση.

Η AIH συνδεδεμένη με τα αντι-LKM-1 παρουσιάζεται κυρίως κατά την παιδική ηλικία και ιδιαίτερα στα κορίτσια ηλικίας 2-14 ετών. Ο προσδιορισμός λοιπόν των αντισωμάτων αντι-LKM-1 είναι βασικής σημασίας στην παιδιατρική.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus LKM-1 είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG αντί-μικροσωμάτων ήπατος-νεφρού (LKM), στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

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

Αναλυτικές οδηγίες

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

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

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

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86080).

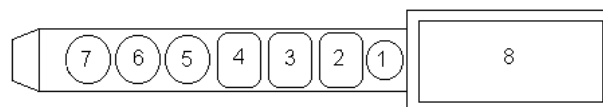
Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86080/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86080).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86080/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με ανασυνδυασμένο κυτόχρωμα p450 IID6.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό διάλυμα Tris (τρι-υδροξυμέθυλο-αμινομεθάνιο), αλατούχο που περιέχει αζίδιο του νατρίου.

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

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

Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος,

ανοίξτε την σακούλα, βγάλετε όλα τα σετ χρειάζονται; επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στην σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος . Διατηρείτε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός. Υγρό, έτοιμος για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός. Υγρό, έτοιμος για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

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

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

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

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

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό θετικού ελέγχου για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. Αν η συσκευή προειδοποιήσει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτού ορίου χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα. Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18 AU/ml

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12 AU/ml

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 12 και 18 AU/ml

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 3.0-300 AU/ml.

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

13. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Η αναλυτική ευαισθησία του παρόντος κιτ είναι 3.0 AU/ml.

14. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Δεν παρατηρήθηκαν διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλα αυτοαντιγόνα. Τα αντισώματα αντι-LKM-1 δείχνουν διαγνωστική ειδικότητα >99% για την αυτοάνοση ηπατίτιδα του τύπου 2 και διαγνωστική ευαισθησία 84%.

15. ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Με την παρούσα μέθοδο αναλύθηκαν επιλεγμένοι οροί και παρατηρήθηκε γραμμική σχέση με την αραιώση. Παρ' όλα αυτά, λόγω της ετερογενούς φύσης των ανθρώπινων αυτοαντισωμάτων, μπορεί να υπάρξουν οροί που δεν ακολουθούν αυτόν τον κανόνα.

Δείγμα αρ.	Συντελεστής αραιώσης	Συγκέντρωση που μετρήθηκε (AU/ml)	Αναμενόμενη συγκέντρωση (AU/ml)	Ανάκτηση (%)
1	Μη αραιωμένο	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	Μη αραιωμένο	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ παρτίδων και Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τ. (AU/ml)	CV%	Μέση Τ. (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.

3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homborg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55: 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344: 578-81.



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS LKM-1

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-microsomas hígado-riñón (LKM)

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-microsomas hígado-riñón (LKM) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La hepatitis autoinmune (HAI) es una enfermedad del hígado progresiva y crónica de origen desconocido que responde bien a la terapia inmunosupresora, pero tiene un pobre pronóstico si no es tratada. El diagnóstico temprano y preciso es por lo tanto de gran importancia. La HAI se caracteriza por rasgos histológicos de hepatitis periportal en ausencia de marcadores virales, por hipergammaglobulinemia y, en la mayoría de pacientes, por la presencia de autoanticuerpos en el suero. Los anticuerpos anti – nucleares (ANA), los autoanticuerpos anti-músculo liso (SMA), los autoanticuerpos microsomales anti hígado – riñón (LKM) y los anticuerpos contra el antígeno soluble del hígado (SLA) son marcadores para la HAI. El 52% de los pacientes con HAI son positivos para ANA y/o SMA, el 20% para SLA y el 3% para LKM-1. Estos anticuerpos son de valor diagnóstico para la HAI pero los únicos anticuerpos elevadamente específicos para la HAI son los SLA. Los ANA/SMA también se dan en el 10-15% de los pacientes con hepatitis vírica y otras enfermedades mediadas por el sistema inmune. Los LKM-1 también están asociados con la hepatitis C. Se pueden distinguir tres tipos de anticuerpos LKM según los antígenos diana. Los anticuerpos LKM-1 se dirigen contra el citocromo p450 IID, una proteína citoplasmática de 50kDa que se encuentra en los hepatocitos y en las células tubulares proximales del riñón. Los anticuerpos LKM-2 se asocian con la hepatitis inducida por ticinafen (ácido tienílico). El antígeno diana es el citocromo p450 IIC9, un isoenzima del citocromo p450 que cataliza la oxidación metabólica de la droga. Los anticuerpos LKM-3 se asocian con la hepatitis D crónica. El antígeno diana es la UDP-1 glucoronosil transferasa. Los LKM-1 asociados a HAI aparecen predominantemente en niñas de 2 a 14 años de edad, de ahí que la determinación de LKM-1 es muy importante en pediatría.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus LKM-1 está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-microsomas hígado-riñón, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.

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

Precauciones analíticas

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

- Desechar 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 que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
- Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
- Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
- No modificar el código de barras colocado en el 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 (ver Manual del Usuario).
- No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
- El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
- No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
- Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86080).

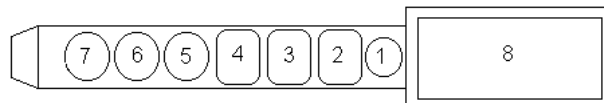
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86080/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86080).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86080/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con citocromo p450 IID6 humano recombinante

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución de proteínas en Tris, salina y que contiene azida sódica

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

Contenido: Suero humano diluido. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

Contenido: Suero humano diluido. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

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

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

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 18 AU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0-300 AU/ml.

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

13. SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica de este kit es 3.0 AU/ml.

14. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

No se observó alguna reacción cruzada con otros autoantígenos. Los anticuerpos anti LKM-1 tienen una especificidad de diagnóstico de >99% para la hepatitis autoinmune de tipo 2 y una sensibilidad de diagnóstico de 84%.

15. LINEALIDAD

Sueros seleccionados se analizaron con este método y se observó una dilución lineal. De todas formas, debido a la variedad de los autoanticuerpos humanos, podrían ser presentes sueros que no se conforman con esta regla.

Muestra nr.	Factor de diluición	Concentración medida (AU/ml)	Concentración esperada (AU/ml)	Recobro (%)
1	No diluido	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	No diluido	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE LOTES Y ENTRE EQUIPOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS LKM-1

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgG anti-mycrosomes hépatiques et renaux (LKM)

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-mycrosomes hépatiques et renaux (LKM) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'hépatite auto-immunitaire (AIH) est une maladie hépatique progressive d'origine inconnue, qui répond bien à la thérapie immuno-suppressive, mais qui, si non soignée, a un pronostic négatif. Un diagnostic sur et précoce revêt donc un rôle d'importance fondamentale. L'AIH est caractérisée par un cadre histologique d'hépatite périportale en absence de marqueurs viraux, par une hypergammaglobulinémie et par la présence des auto-anticorps dans le sérum de la majorité des patients. Les anticorps anti-nucléaires (ANA), les anticorps anti-muscles lisses (SMA, smooth muscle antibodies), les anticorps anti-mycrosomiaux hépatiques et rénaux (LKM, liver kidney microsomes) et les anticorps anti-antigène hépatique soluble (SLA, soluble liver antigen), sont des anticorps marqueurs de l'AIH. 52% des patients AIH est positif aux ANA et/ou aux SMA, 20% positif aux SLA et 3% présentent des anticorps anti-LKM-1. Tous ces anticorps sont très importants pour le diagnostic d'AIH, cependant, jusqu'à présent, seulement les auto-anticorps anti-SLA ont résulté hautement spécifiques pour l'AIH. Les ANA/SMA se rencontrent chez 10-15% des patients atteints d'hépatite virale ou d'autres maladies liées au système immunitaire. Les LKM-1 se retrouvent également chez les patients souffrant d'hépatite C.

Les anticorps anti-LKM peuvent être sub-divisés en trois types selon les antigènes cible respectifs. Les anticorps anti-LKM-1 sont dirigés contre le cytochrome p450 IID6, une protéine cytoplasmique de 50 kDa qui se trouve dans les hépatocytes et dans les tubules rénaux proximaux. Les anticorps LKM-2 sont associés à l'hépatite induite par ticrynafén. L'antigène cible des LKM-2 est le cytochrome p450 IIC9, une isoenzyme du cytochrome p450, qui induit l'oxydation métabolique du médicament. Les anticorps anti-LKM-3 sont associés à

l'hépatite chronique D et leur antigène cible est l'UDP-glucuronosyl-transférase.

L'AIH associée aux anti-LKM-1 se manifeste de façon prévalente durant l'enfance, surtout chez les petites filles d'âge compris entre 2 et 14 ans. La détermination des anticorps anti-LKM-1 est donc d'importance fondamentale en pédiatrie.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus LKM-1 est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-mycrosomes hépatiques et renaux (LKM), dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

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

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

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

10. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
11. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1 % minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à une concentration de 1% pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
12. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

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

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

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86080).

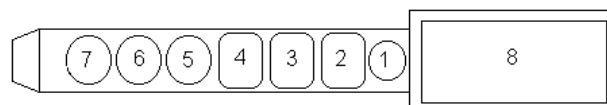
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86080/12).

DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86080).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86080/12).

Description:



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

Position 7: Vide

Position 6: Puits de la microplaque

Sensibilisé avec le cytochrome p450 IID6 humain recombinant.

Position 5: Puits de la microplaque

Non sensibilisé.

Position 4: SUBSTRAT TMB

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

Position 3: DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu: Solution protéique en Tris, saline et contenant de l'azide de sodium.

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: Puits vide

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

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR

Contenu: Sérum humain dilué. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

Contenu: Sérum humain dilué. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

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

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

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

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

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

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

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

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

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

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

8. PROCÉDURE

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

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

9. VALIDATION DU TEST

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

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

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

POSITIF quand le résultat est > 18 AU/ml

NÉGATIF quand le résultat est < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITES DU TEST

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

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

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 3.0-300 AU/ml.

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

13. SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La sensibilité analytique de ce kit est de 3.0 AU/ml.

14. SENSIBILITE ET SPECIFICITE

Des réactions croisées avec d'autres antigènes n'ont pas été observées. Les anticorps anti-LKM-1 montrent une spécificité diagnostique de plus de 99% pour l'hépatite auto-immunitaire de type 2 et une sensibilité diagnostique de 84%.

15. LINEARITE

Des sérums sélectionnés ont été testés par cette méthode et une dilution linéaire a été observée. Cependant, à cause de la nature hétérogène des auto-anticorps humains, des sérums ne suivant pas cette règle pourraient être présents

Echantillon n°	Facteur de dilution	Concentration mesurée (AU/ml)	Concentration attendue (AU/ml)	Récupération (%)
1	Non dilué	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	Non dilué	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Echantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-LOTS ET INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (AU/ml)	CV%	Moyenne (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55: 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344: 578-81.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italie





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS LKM-1

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-microsomas hepáticos e renais (LKM)

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos de classe IgG anti-microsomas hepáticos e renais (LKM) no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A hepatite autoimune (AIH) é uma doença hepática progressiva de origem desconhecida, que responde bem a uma terapia imunossupressiva, mas que, se não for tratada, tem um prognóstico negativo. Portanto tem um papel de importância fundamental um diagnóstico seguro e precoce. A AIH é caracterizada pelo quadro histológico de uma hepatite periportal em ausência de marcadores virais, por uma hipergamaglobulinemia e pela presença de auto-anticorpos no soro, na maioria dos pacientes. Os anticorpos antinúcleo (ANA), os anticorpos anti-músculos lisos (SMA, smooth muscle antibodies), os anticorpos anti-microsomas hepáticos e renais (LKM, liver kidney microsomes) e os anticorpos anti-antígeno hepático solúvel (SLA, soluble liver antigen), são anticorpos marcadores para a AIH. 52% dos pacientes de AIH é positivo a ANA e/ou a SMA, 20% é positivo a SLA e 3% apresenta anticorpos anti-LKM-1. Todos estes anticorpos são muito importantes para o diagnóstico de uma AIH, todavia, até agora só resultaram altamente específicos para a AIH os auto-anticorpos anti-SLA. Os ANA/SMA são encontrados em 10 a 15% dos pacientes que sofrem de hepatite viral ou de outras doenças imuno-mediadas. Os LKM-1 também se encontram em pacientes com hepatite C.

Os anticorpos anti-LKM podem ser subdivididos em três tipos em função dos respectivos antígenos target. Os anticorpos anti-LKM-1 são dirigidos contra o citocromo p450 IID6, uma proteína citoplasmática de 50 kDa que se encontra nos hepatócitos e nos túbulos renais proximais. Os anticorpos LKM-2 estão associados à hepatite induzida por ticrynafen. O antígeno target dos LKM-2 é o citocromo p450 IIC9, um isoenzima do citocromo p450, que induz a oxidação metabólica do medicamento. Os anticorpos anti-LKM-3 estão associados à

hepatite crônica D e o seu antígeno target é o UDP-glucuronosil-transferase.

A AIH associada a anti-LKM-1 surge principalmente na infância, sobretudo nas meninas entre os 2 e os 14 anos. Portanto, em pediatria, a determinação dos anticorpos anti-LKM-1 é de importância fundamental.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus LKM-1 está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG anti-microsomas hepáticos e renais (LKM), nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma proteção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).

5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afetada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado. Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86080).

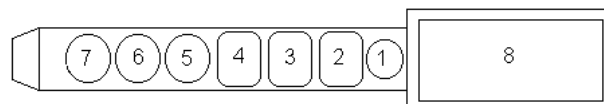
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86080/12).

DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86080).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86080/12).

Descrição:



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

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com citocromo p450 IID6 recombinante.

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica em Tris, salina e com azida de sódio.

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

Conteúdo: Soro humano diluído. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

Conteúdo: Soro humano diluído. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.

- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µL
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

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

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

Tel: 0039 0577 587121
Fax: 0039 0577 587122
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

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

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

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

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0-300 AU/ml.

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

13. SENSIBILIDADE ANALÍTICA

A sensibilidade analítica deste kit é de 3.0 AU/ml.

14. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

Não foi observada nenhuma reacção cruzada com outros auto-antígenos. Os anticorpos anti-LKM-1 mostram uma especificidade de diagnóstico de > 99% para a hepatite autoimune do tipo 2 e uma sensibilidade de diagnóstico de 84%.

15. LINEARIDADE

Foram ensaiados com este método alguns soros seleccionados e foi observada uma diluição linear. Todavia, devido à natureza

heterogénea dos auto-anticorpos humanos, poderão estar presentes soros que não seguem esta regra.

Amostra n.º	Factor de diluição	Concentração medida (AU/ml)	Concentração prevista (AU/ml)	Recuperação (%)
1	Não diluído	78.9	80.0	98.6
	1/2	39.8	40.0	99.5
	1/4	18.9	20.0	94.5
	1/8	9.6	10.0	96.0
2	Não diluído	34.2	33.0	103.6
	1/2	17.2	16.5	104.2
	1/4	8.1	8.3	97.6
	1/8	4.0	4.2	95.2

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Lotes e Entre Equipamentos	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	42.9	9.3	37.5	6.5
2	43.8	5.7	<3.0	-
3	44.6	10.1	<3.0	-
4	-	-	<3.0	-
5	-	-	<3.0	-

17. BIBLIOGRAFIA

1. Krawitt EL (1996) New Engl J Med. 334: 897-903.
2. Meyer zum Buschenfelde KH and Lohse AW (1995) New Engl J Med 333: 1004-1005.
3. Alvarez F et al (1999) J Hepatol 31: 929-938.
4. Manns MP et al (1991) J Clin Invest 88: 1370-1378.
5. Homberg JC et al (1984) Clin Exp Immunol 55 : 561-570.
6. Philipp T et al (1994) Lancet 344 : 578-81.



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



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione	FR Date de fabrication GR Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro	FR Utiliser 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