

CHORUS

dsDNA-G

REF 86032

REF 86032/12



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

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Změny zavedené v aktuální revizi Αλλαγές που εισάγονται στην τρέχουσα αναθεώρηση Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Alterações introduzidas na revisão atual Modificări introduse în actuala revizuire	4 – 5 – 13 - 14 – 15 – 16 – 17 -18



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS dsDNA-G

Per la determinazione quantitativa degli anticorpi IgG anti-dsDNA

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

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

2. INTRODUZIONE

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

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

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

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

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo dsDNA-G è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-dsDNA negli strumenti CHORUS. Il test si basa sul principio ELISA. L'antigene, altamente purificato, viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con siero umano diluito.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali, altamente specifici per le anti-immunoglobuline umane coniugate con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

Il kit Chorus dsDNA-G viene calibrato in riferimento a sieri forniti dal CDC Atlanta. I risultati sono espressi in Unità Internazionali (IU/ml).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati 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 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 TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse

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

5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86032).

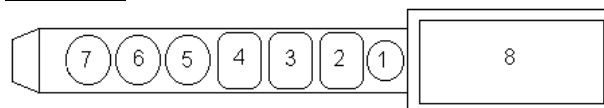
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86032).

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

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con dsDNA altamente purificato.

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

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

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.175 ml

Contenuto: Soluzione proteica contenente anticorpi specifici capaci di legare la micropiastra e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenuto: Soluzione proteica contenente anticorpi specifici capaci di legare la micropiastra e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di una errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la

calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio. Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinatori per la conservazione dei campioni. Dopo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio. L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei. Campioni fortemente lipemici, itterici o inquinati non possono essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus fornisce un risultato in unità internazionali IU/ml (WHO/80) calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO quando il risultato è > 30.0 IU/ml
NEGATIVO quando il risultato è < 20.0 IU/ml
DUBBIO/EQUIVOCO quando il risultato è compreso fra 20.0 e 30.0 IU/ml

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i risultati positivi necessitano di una attenta interpretazione. Il test non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica. Un risultato negativo non preclude la eventualità di malattia. Il risultato del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 10.0-150.0 IU/ml.
Per campioni >150.0 IU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I valori attesi nella popolazione normale, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, erano compresi fra 10.0 e 13.2 IU/ml.

14. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 4 campioni (2 Negativi e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (110 UI/ml)
Bilirubina (45 mg/dl)
Trigliceridi (1500 mg/dl)
Emoglobina (10 mg/ml)

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

15. CROSS-REATTIVI

28 campioni, positivi a tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M e ASCA sono stati testati.
Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

16. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione sono stati analizzati 157 campioni con kit Diesse e con altro kit del commercio.
Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Totale	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Valore predittivo positivo (PPV): 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9

Valore predittivo negativo (NPV): 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. PRECISIONE

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. BIBLIOGRAFIA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M. et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS dsDNA-G

For the quantitative determination of IgG-class antibodies against dsDNA

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

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

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

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

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

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

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

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

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

The blue colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments.

The Chorus dsDNA-G is calibrated against reference sera from the CDC (Atlanta). The results are expressed in IU/ml.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and found negative for both HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. Since no diagnostic test can offer a complete guarantee on the absence of infectious agents, any material of human origin must be considered potentially infected. All reagents and samples must be handled in accordance with the safety standards normally adopted in the laboratory.

Disposal of residues: the serum samples, calibrators and the strips used must be treated as infected residues, therefore disposed of in accordance with the provisions of current laws.

Personal safety warnings

1. Do not pipette with your mouth.
2. Use single-use gloves and eye protection when handling samples.
3. Wash your hands thoroughly after inserting the devices into the CHORUS TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on request) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralised acids and other liquid waste must be disinfected by adding sodium hypochlorite in a volume sufficient to obtain a final concentration of at least 1%. Exposure to 1% hypochlorite sodium for 30 minutes should be sufficient to ensure effective disinfection.
6. Any spillage of potentially infected materials must be removed immediately with absorbent paper and the contaminated area must be decontaminated, for example with 1% hypochlorite sodium, before continuing work. If an acid is present, sodium hypochlorite must not be used before the area has been dried.

All materials used to decontaminate any accidental spillage, including gloves, must be discarded as potentially infected waste.

Do not autoclave materials containing hypochlorite sodium.

Analytical warnings

Before use, bring the devices to be used to room temperature (18-30°C) and use within 60 minutes.

1. **Discard the devices with blue coloured substrate (well 4).**
2. When adding the sample to the well, check that it is perfectly distributed at the bottom.
3. Check the actual presence of reagents in the device and the integrity of the device itself. Do not use devices that lack any reagents and/or that have any foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices must be used in conjunction with the CHORUS TRIO instrument, strictly following the Instructions for Use and the User Manual of the instrument.

Use of the kit is only possible with an updated version of the software. Make sure that the software installed in the instrument matches or has a Release (date) above the one shown in the table published on the Diesse website

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

5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set correctly (see User Manual).
6. Do not alter the barcode placed on the handle of the device in order to allow it to be read correctly by the instrument.
7. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.
8. Defective barcodes can be manually entered into the instrument (see User Manual).
9. Do not expose the devices to strong lighting or hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of heavily haemolysed, lipemic, icteric, non-fully coagulated serum samples or of samples with microbial contamination may be a source of errors.
11. Do not use the device after its expiry date
12. **Check that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86032).

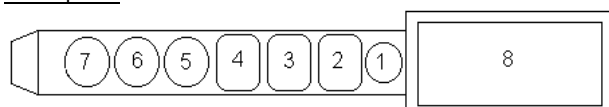
The kit is sufficient for 12 tests. (REF 86032/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86032).

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

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with highly purified dsDNA

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Protein solution containing specific antibodies capable of binding the microplate and preservative. Liquid, ready to use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Protein solution containing specific antibodies capable of binding the microplate and preservative. Liquid, ready to use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

POSITIVE CONTROL 8 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. Heat-inactivation can rise to erroneous results. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples cannot be used.

The test cannot be applied to plasma.

8. ASSAY PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus instrument expresses the result in IU/ml (WHO/80) calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 30.0 IU/ml

NEGATIVE: when the result is < 20.0 IU/ml

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

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

11. LIMITATIONS

All the positive results require a careful interpretation.

The test cannot be used as only method for a clinical diagnosis.

Negative results may not exclude an eventual infection.

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 10.0-150.0 IU/ml.

For samples > 150.0 IU/ml repeat the test pre-diluting the sample with Negative Control/Sample Diluent (PF83607 – **not supplied with the kit**).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, were between 10.0 and 13.2 IU/ml.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

4 samples (2 negative and 2 Positive) containing the following interfering substances were tested:

Rheumatoid Factor (110 UI/ml)
Bilirubin (45 mg/dl)
Triglycerides (1500 mg/dl)
Hemoglobin (10 mg/ml)

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

15. CROSS-REACTIONS

28 Samples positive to tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M and ASCA were tested.

No significant cross-reactions were found.

16. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

In an experimentation 157 samples were tested with the Diesse kit and with another commercial kit.

The results are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Total	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic

Specificity): 97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Positive Predictive Value (PPV): 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9

Negative Predictive Value (NPV): 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. PRECISION

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. REFERENCES

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M. et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS dsDNA-G

Pro kvantitativní stanovení IgG anti- dsDNA protilátek

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

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

2. ÚVOD

Protilátky, které se váží na DNA, patří do skupiny antinukleárních protilátek (ANA), které byly zjištěny u několika autoimunitních onemocnění. Protilátky reagující s nativní dvouvláknovou (ds) DNA se považují za specifické pro systémový lupus erythematosus (SLE) a byly zjištěny u zhruba 50–80 % pacientů. Protilátky proti dsDNA se nacházejí v průběhu aktivní fáze SLE. Koncentrace v séru pozitivně koreluje se závažností onemocnění, a proto je detekce těchto autoprotilátek důležitá pro diagnózu a klinické sledování SLE. Detekce těchto autoprotilátek reprezentuje jedno z 11 ACR kritérií pro diagnózu SLE.

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

3. PRINCIP METODY

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

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

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

Navázaný konjugát je eliminován a přidá se peroxidázový substrát.

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

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

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

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití testů schválených pro stanovení přítomnosti HBsAg a protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agenti nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení se všemi reagensiemi a vzorky je nutné dodržovat bezpečnostní opatření běžně přijímaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými právními předpisy.

Upozornění týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagensií obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. 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.
6. 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 je nutné nejprve ořtením vysušit. Všechny materiály použité k čištění případně potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad.

Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládějte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte, zda jsou v nástroji přítomny všechny reagenty a zda nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, u nichž je při vizuální kontrole zjištěna nepřítomnost některé reagenty nebo přítomnost cizího tělesa v reagenční jamce.
- Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením CHORUS TRIO; je třeba pozorně dodržovat uživatelskou příručku a návod k obsluze nástroje.
Používání soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že je verze softwaru nainstalovaná v zařízení vyšší nebo stejná jako verze uvedená v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
- Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze).
- Dbejte, aby nedošlo k porušení čárového kódu na rukojeti nástroje, aby jej zařízení mohlo správně přečíst.
- Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.
- Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
- Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
- Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků představujících mikrobiální znečištění.
- Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
- 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 86032).

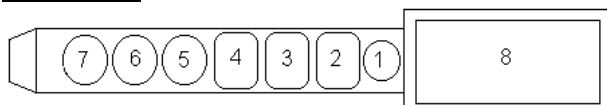
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86032/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86032).

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

Popis nástroje:



Pozice 8: Místo k upevnění štítku s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Potažená vysoce purifikovaným dsDNA.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

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

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

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

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.175 ml

Obsahuje: Proteinový roztok obsahující specifické protilátky schopné vázat mikrotitrační destičku a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0.425 ml

Obsahuje: Proteinový roztok obsahující specifické protilátky schopné vázat mikrotitrační destičku a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Test nelze aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ při poměru > 30.0 IU/ml,
NEGATIVNÍ při poměru < 20.0 IU/ml,
SPORNÉ/NEJASNÉ pro všechny hodnoty mezi 20.0 a 30.0 IU/ml.

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

11. OMEZENÍ

Všechny pozitivní výsledky vyžadují pečlivou interpretaci.

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

Negativní výsledky nemusí vylučovat eventuální infekci.

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

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 10.0–150.0 IU/ml.

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

13. REFERENČNÍ ROZMEZÍ

V normální populaci se očekávané hodnoty, stanovené na základě měření 120 sér od zdravých dárců, pohybovaly mezi 10.0 a 13.2 IU/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 4 vzorků (2 negativní, a 2 pozitivní) obsahujících následující rušivé substance.

Revmatoidní faktor (110 UI/ml).
Bilirubin (45 mg/dl).
Triglyceridy (1500 mg/dl).
Hemoglobin (10 mg/ml).

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

15. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 28 vzorky pozitivní na tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M e ASCA.

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

16. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

V experimentu bylo testováno 157 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje níže uvedená tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Celkem	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Diagnostická citlivost):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Diagnostická specifičnost):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9

Negativní prediktivní hodnota (NPV): 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. PŘESNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (IU/ml)	CV%	Průměr (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (IU/ml)	CV%	Průměr (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M. et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS dsDNA-G

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

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΧΡΗΣΗ

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

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

Τα αντισώματα αντί dsDNA παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της φάσης έξαρσης του ΣΕΛ. Η συγκέντρωση στον ορό έχει άμεση σχέση με την βαρύτητα της νόσου. Ο προσδιορισμός αυτών των αυτοαντισωμάτων αποτελεί, ως εκ τούτου, ένα πολύ σημαντικό στοιχείο για τη διάγνωση και την κλινική παρακολούθηση του ΣΕΛ. Κατά συνέπεια, αυτή η παράμετρος ορίστηκε ως ένα από τα 11 κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του ΣΕΛ. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, παρουσιάζουν τα αντισώματα IgG κατά του dsDNA. Αυτά τα αυτοαντισώματα συνδέονται με την νεφρίτιδα από ΣΕΛ. Επίσης, το 30% των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, αναπτύσσει αντισώματα αντι-dsDNA της κατηγορίας των IgA. Έχει υποτεθεί ότι η παρουσία αντισωμάτων IgA μπορεί να χαρακτηρίσει κάποια υπο-ομάδα ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ. Πράγματι, μερικές μελέτες, αποδεικνύουν τη σχέση αυτής της υπο-ομάδας με ορισμένες παραμέτρους που έχουν σχέση με την δραστηριότητα της ασθένειας, όπως η υψηλή τιμή της ESR (ταχύτητα καθίζησης ερυθρών) ή η ανάλωση του συστατικού στοιχείου C3 του συμπληρώματος, όπως και οι κλινικές παράμετροι της δερματικής αγγειίτιδας, της νέκρωσης των άκρων και του ερυθήματος, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία σχέση στην περίπτωση νεφρίτιδας και αρθρίτιδας.

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

αντισώματα IgM μπορεί να υποδεικνύουν μία υπο-ομάδα ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ, οι οποίοι προστατεύονται από τον κίνδυνο να αναπτύξουν νεφρίτιδα.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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

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

Οι ταινίες μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για να εκτελεστεί το τεστ στους αναλυτές Chorus. Το kit Chorus dsDNA-G έχει βαθμονομηθεί ως προς τους ορούς αναφοράς που παρέχει το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ (CDC Atlanta).

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε UI/ml.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Данный набор содержит материалы человеческого происхождения, которые были проверены и признаны отрицательными с помощью тестов, одобренных для выявления как HBsAg, так и антител к HIV-1, HIV-2 и HCV. Поскольку ни один диагностический тест не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов, любой материал человеческого происхождения должен рассматриваться как потенциально инфицированный. Со всеми реактивами и образцами необходимо обращаться в соответствии с правилами безопасности, обычно принятыми в лаборатории.

Утилизация отходов: использованные образцы сыворотки, калибраторы и полоски должны рассматриваться как инфицированные отходы, поэтому их следует утилизировать в соответствии с требованиями действующего законодательства.

Πравила личной безопасности

1. Не пипетируйте ртом.
2. При работе с образцами используйте одноразовые перчатки и средства защиты глаз.
3. Тщательно мойте руки после установки устройств в прибор CHORUS TRIO.
4. Указания о степени безопасности реагентов, содержащихся в наборе, см. в паспорте безопасности (предоставляется по запросу).

5. Нейтрализованные кислоты и другие жидкие отходы следует дезинфицировать путем добавления гипохлорита натрия в объеме, достаточном для достижения конечной концентрации не менее 1%. Воздействие 1% гипохлорита натрия в течение 30 минут должно быть достаточным для обеспечения эффективной дезинфекции.
6. Любые пролитые потенциально инфицированные материалы должны быть немедленно удалены впитывающей бумагой, а загрязненная область обеззаражена, например, 1% гипохлоритом натрия, перед продолжением работы. В присутствии кислоты гипохлорит натрия не следует использовать до тех пор, пока соответствующий участок не будет высушен. Все материалы, используемые при удалении случайно разлитых веществ, включая перчатки, должны быть выброшены как потенциально инфицированные отходы. Не помещайте в автоклав материалы, содержащие гипохлорит натрия.

Общие рекомендации

Перед использованием доведите приборы до комнатной температуры (18-30°C), после чего используйте их не позднее чем через 60 минут.

1. **Устройства с субстратом (лунка 4), окрашенным в синий цвет, подлежат отбраковке.**
2. При добавлении образца в лунку убедитесь, что он идеально распределен по дну.
3. Проверьте фактическое наличие реагентов в приборе и целостность самого прибора. Не используйте приборы, в которых при осмотре обнаруживается отсутствие какого-либо реагента и/или наличие инородных тел в реакционной лунке.
4. Устройства должны использоваться в сочетании с прибором CHORUS TRIO, строго следуя инструкции по применению устройств и руководству по эксплуатации прибора.
Использование комплекта возможно только при наличии обновленной версии программного обеспечения. Убедитесь, что номер версии (Rel.) установленного в приборе программного обеспечения соответствует указанному в таблице, опубликованной на сайте Diesse, или выше его.
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Убедитесь, что прибор CHORUS TRIO настроен правильно (см. руководство по эксплуатации).
6. Не допускайте порчи штрих-кода на ручке устройства, чтобы прибор мог правильно его считать.
7. Не используйте для хранения образцов саморазмораживающиеся морозильные камеры.
8. В случае порчи штрих-кодов их можно ввести в прибор вручную (см. руководство по эксплуатации).
9. Не подвергайте устройства воздействию сильного света или паров гипохлорита во время их хранения и использования.

10. Использование сильно гемолизированной, липемической, иктеричной, не полностью свернувшейся сыворотки или зараженных микроорганизмами образцов может приводить к возникновению ошибок.
11. Не используйте устройство после истечения срока годности.
12. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με τον Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86032).

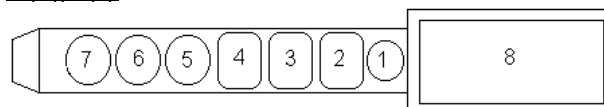
Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86032/12).

DD ΣΕΤ

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

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

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Ευαίσθητοποιημένη με dsDNA υψηλής καθαρότητας.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Μη ευαίσθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει ειδικά αντισώματα ικανά να δεσμεύσουν μικροπλάκα και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει ειδικά αντισώματα ικανά να δεσμεύσουν μικροπλάκα και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό ελέγχου (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συνιστόν μέρος και πάνω στην εξωτερική επικέτα της συσκευασίας.

Τα Αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

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

Υψηλά λιπαρικά και ικτερικά δείγματα, καθώς και μολυσμένα δείγματα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Το τεστ δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός σετ, 50 μ L μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ό,τι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα. Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

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

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

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Όλα τα θετικά αποτελέσματα χρειάζονται μία προσεκτική ερμηνεία.

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

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

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Ευρος Βαθμονομησης 10.0-150.0 IU/ml.

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

13. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι αναμενόμενες τιμές στον φυσιολογικό πληθυσμό, οι οποίες προσδιορίστηκαν κατόπιν ανάλυσης 120 δειγμάτων ορού από υγιείς δότες, κυμαίνονται μεταξύ 10.0 και 13.2 IU/ml.

14. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία 4 δείγματα (2 αρνητικά και 2 θετικά), στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγοντας (110 UI/ml)

Χολερυθρίνη (45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (1500 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (10 mg/ml)

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

15. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

28 Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία δείγματα θετικά για a tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M και ASCA.

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

16. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Κατά τη διεξαγωγή δοκιμής αναλύθηκαν 157 δείγματα με το κιτ Diesse και με άλλο κιτ του εμπορίου.

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

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Σύνολο	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Положительная предсказательная ценность (PPV): 92.9%

IC_{95%}: 88.9-96.9

Отрицательная предсказательная ценность (NPV): 99.1%

IC_{95%}: 97.6-100.0

17. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%	Μέση Τ. (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M.et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS dsDNA-G

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG anti- dsDNA

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

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

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

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

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

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

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

El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

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

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y, por consiguiente, deben desecharse conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Advertencias para la seguridad personal

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo CHORUS TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para limpiar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Una sola exposición a la solución de hipoclorito de sodio al 1 % de 30 minutos de duración debería bastar para garantizar una desinfección eficaz.

6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si hay ácido, no deberá utilizarse hipoclorito de sodio hasta que se haya secado la zona.

Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames accidentales, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos.

No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) y usarlos en 60 minutos.

- Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
- Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
- Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
- Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo CHORUS TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
- Comprobar que el equipo CHORUS TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
- No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
- Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
- Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
- No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
- Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
- No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
- Comprobar que el aparato esté contactado con la Washing buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86032).

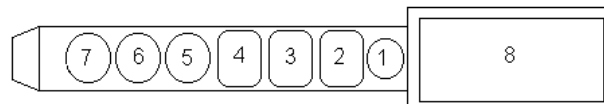
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVOS

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

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

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con dsDNA altamente purificado.

Posición 5: POCILLO

No sensibilizado.

Posición 4: SUBSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Contenido: Solución proteica con anticuerpos específicos capaces de unir el antígeno presente en la microplaca, y conservante. Líquido, listo para su uso

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenido: Solución proteica con anticuerpos específicos capaces de unir el antígeno presente en la microplaca, y conservante. Líquido, listo para su uso

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVECONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)

- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio. El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces. No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso. La inactivación térmica puede dar resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

La prueba puede ser interpretada como sigue:

POSITIVO cuando el resultado es > 30.0 IU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 20.0 IU/ml

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

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

11. LIMITACIONES

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

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 10.0-150.0 IU/ml.

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

13. VALORES DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 10.0 y 13.2 IU/mL.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

4 muestras fueron analizadas (2 negativas y 2 positivas) a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (110 UI/ml)
Bilirrubina (45 mg/dl)
Triglicéridos (1500 mg/dl)
Hemoglobina (10 mg/ml)

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

15. REACCIONES CRUZADAS

28 Se han probado muestras positivas a tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M, y ASCA.

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

16. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba 157 muestras fueron analizadas con kit Diesse y con otro método comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
	Diesse			
	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Total	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Valor predictivo positivo (VPP): 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9

Valor predictivo negativo (VPN): 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M.et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS dsDNA-G

Pour la détermination quantitative des anticorps IgG anti-dsDNA

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

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

2. INTRODUCTION

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

Les anticorps anti-dsDNA se rencontrent durant les phases actives du SLE. La concentration sérique est directement corrélée à la gravité de la maladie. La détermination de ces auto-anticorps est donc importante dans le diagnostic et le monitoring clinique du SLE. En conséquence, ce paramètre a été établi comme un des 11 critères pour le diagnostic du SLE. La plus grande partie des patients atteints de SLE présente des anticorps de la classe IgG envers le dsDNA. Ces auto-anticorps sont associés à la néphrite de SLE. De plus, environ 30% des patients avec SLE développe des anticorps anti-dsDNA de la classe IgA. On a fait l'hypothèse que la présence de ces anticorps de la classe IgA puisse distinguer un certain sous-groupe de patients atteints de SLE. En effet, certaines études démontrent l'association de ce sous-groupe avec certains paramètres associés à l'activité de la maladie, tels que la VES élevée ou la consommation du composant C3 du complément, comme aussi les paramètres cliniques de l'angéite cutanée, nécrose acrale et érythème, tandis qu'aucune association n'a été observée dans le cas de néphrite et d'arthrite.

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

3. PRINCIPE DU TEST

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

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

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

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

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

4. PRECAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et jugées négatives lors de tests approuvés pour la recherche de HbsAg et 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, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme étant potentiellement infectée. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité habituellement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements relatifs à la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'analyseur CHORUS TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium afin d'obtenir une concentration finale de 1 % minimum. Une exposition à 1 % d'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.

6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium.
- Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels déversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé.
- Ne pas mettre placer de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

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

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présentent des corps étrangers dans le puit de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur CHORUS TRIO, en respectant scrupuleusement le Mode d'emploi et le Manuel de l'utilisateur de l'analyseur.
Le kit peut uniquement être utilisé avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé dans l'appareil est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. S'assurer que l'analyseur CHORUS TRIO est réglé correctement (voir le Manuel de l'utilisateur).
6. Ne pas altérer le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'analyseur (voir Manuel de l'utilisateur).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, lipidiques, jaunâtres, de sérum qui ne sont pas complètement coagulés ou présentent une pollution microbienne peut être à la source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **Vérifier que l'analyseur est connecté au Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

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

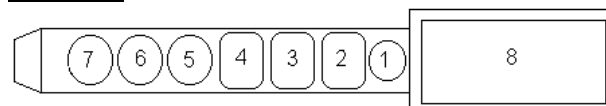
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86032/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86032).

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

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : Puits de la microplaque

Sensibilisé avec un dsDNA hautement purifié.

Position 5 : Puits

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ECHANTILLONS

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

Position 2 : CONJUGUE

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

Position 1 : 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 autres non utilisées dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR

1 x 0.175 ml

Contenu : Solution protéique contenant des anticorps spécifiques capables de fixer la microplaque et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.425 ml

Contenu : Solution protéique contenant des anticorps spécifiques capables de fixer la microplaque et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.

- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITES DE CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ECHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé comme recommandé dans les procédures standard de laboratoire. Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8°C, pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20°C. Peut subir jusqu'à un maximum de trois décongelations. L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations. Eviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.

Après décongelation, agiter avec soin avant le dosage. La non-activation à la chaleur peut provoquer des résultats erronés. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

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

Le test ne s'applique pas au plasma humain.

8. PROCEDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 : « Précautions analytiques ».
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

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

Les résultats peuvent être interprétés comme suit:

POSITIF quand le résultat est > 30.0 IU/ml

NEGATIF quand le résultat est < 20.0 IU/ml

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

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

11. LIMITES DU TEST

Chaque résultat positif oblige à faire une interprétation attentive. Le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique. Un résultat négatif n'exclut pas l'éventualité d'une infection.

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

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

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

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

13. INTERVALLES DE CONTRÔLE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées après l'examen de 120 sérums de donneurs sains, étaient comprises entre 10.0 et 13.2 IU/ml.

14. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

4 échantillons (2 négatifs et 2 positifs) ont été testés, auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Facteur rhumatoïde (110 UI/ml)

Bilirubine (45 mg/dl)

Triglycérides (1500 mg/dl)

Hémoglobine (10 mg/ml)

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

15. RÉACTIONS CROISÉES

28 Des échantillons positifs aux tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M et ASCA ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

16. SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

Au cours d'un essai, 157 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

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

		Contrôle		
		+	-	Total
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Total	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Valeur prédictive positive (PPV) : 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9

Valeur prédictive négative (NPV) : 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. PRÉCISION

Echantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne (IU/ml)	CV%	Moyenne (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Echantillon	INTER-LOTS		ENTRE INSTRUMENTS	
	Moyenne (IU/ml)	CV%	Moyenne (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. BIBLIOGRAPHIE

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M. et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS dsDNA-G

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti- dsDNA

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

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

2. INTRODUÇÃO

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

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

A maior parte dos pacientes com LES apresentam anticorpos da classe IgG contra o dsDNA. Esses auto-anticorpos são associados à nefrite do LES. Para além disso, aproximadamente 30% dos pacientes com LES desenvolvem anticorpos anti-dsDNA da classe IgA. Foi formulada a hipótese que a presença desses anticorpos de classe IgA possa distinguir um certo subgrupo de pacientes com LES. De facto, alguns estudos demonstram a associação deste subgrupo com certos parâmetros associados à actividade da doença, tais como a VES elevada ou o consumo do componente C3 do complemento, como também os parâmetros clínicos da vasculite cutânea, necrose acral e eritema, enquanto que não foi observada nenhuma associação em caso de nefrite e artrite.

Os anticorpos anti-dsDNA da classe IgM foram encontrados em 52% dos soros de pacientes que sofrem de LES. Ao contrário das IgG e das IgA, as IgM não estão relacionadas com a actividade da doença. Todavia, foi demonstrada uma correlação negativa altamente significativa entre as IgM anti-dsDNA e a nefrite associadas ao LES, incluindo os respectivos parâmetros de laboratório. Portanto, os anticorpos IgM podem indicar um subgrupo de pacientes com LES os quais estão protegidos do risco de desenvolvimento da nefrite.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

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

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

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

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

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

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana testados e negativos ao HBsAg e aos anticorpos anti-VIH 1, anti-VIH 2 e anti-VHC. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infetado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infetados e, portanto, eliminados de acordo com as normas de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a ficha de segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Exposição a hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infetado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a

área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se houver algum ácido presente, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes da referida área estar seca.

Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados.

Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes de utilizar, por à temperatura ambiente (18-30 °C) os dispositivos que vão ser usados e utilizar dentro de 60 minutos.

1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

O uso do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou é superior à Release (Rel.) mostrada na tabela publicada no site da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras imperfeitos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictéricas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
12. **Verificar se o instrumento tem ligação estabelecida com a Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

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

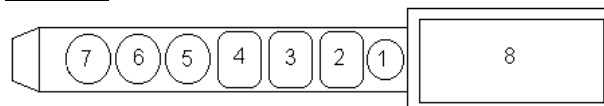
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86032).

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

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA sensibilizado com dsDNA altamente purificado

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

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

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticuerpos monoclonais anti-IgG humanos marcados com peroxidase, em una solución tampón fosfato con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.

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

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Conteúdo: Solução proteica que contém anticorpos específicos capazes de ligar microplaca e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

Conteúdo: Solução proteica que contém anticorpos específicos capazes de ligar microplaca e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

A amostra é um soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório. O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores No Frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes do teste. Inactivação de calor pode levar a resultados erróneos. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

Não devem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictericas ou contaminadas.

Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

Os resultados podem ser assim interpretados:

POSITIVO quando o resultado for > 30.0 IU/ml

NEGATIVO quando o resultado for < 20.0 IU/ml

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

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os resultados positivos precisam de uma interpretação cuidadosa.

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

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 10.0-150.0 IU/ml.

Para amostras >150.0 IU/ml repita o teste pré-diluindo a amostra em Negative Control Sample Diluent (PF83607- **não fornecido com o kit**).

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados examinando 120 soros de doadores saudáveis, estavam compreendidos entre 10.0 e 13.2 IU/ml.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 4 amostras (2 Negativas e 2 Positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Factor Reumatóide (44 UI/ml – 110 UI/ml)
Bilirrubina (45 mg/dl)
Triglicéridos (1500 mg/dl)
Hemoglobina (10 mg/ml)

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

15. REACÇÕES CRUZADAS

28 Amostras, positivas em tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M e ASCA foram testadas.

Não foram detectadas reacções cruzadas significativas.

16. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Numa experimentação 157 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Total	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Valor Preditivo Positivo (VPP): 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9

Valor Preditivo Negativo (VPN): 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. PRECISÃO

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. BIBLIOGRAFIA

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M.et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.



INSTRUCIUNI DE UTILIZARE

CHORUS dsDNA-G

Pentru determinarea cantitativa a anticorpilor IgG anti-dsDNA

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

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

2. INTRODUCERE

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

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

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

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

3. PRINCIPIUL METODEI

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

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

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

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

Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza.

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

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

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

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au indicat un rezultat negativ pentru prezența HBsAg și pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 și anti-HCV, prin testarea cu ajutorul metodelor aprobate. Deoarece niciun test de diagnosticare nu poate oferi o garanție completă privind absența agenților infecțioși, orice material de origine umană trebuie să fie considerat potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele de siguranță adoptate de obicei în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibroarele și benzile utilizate trebuie tratate ca și reziduuri infectate și eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. In timpul manipulării probelor, purtați mănuși de unică folosință și ochelari de protecție.
3. Spălați-vă bine pe mâini după introducerea dispozitivelor în instrumentul CHORUS TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișele cu date de securitate (disponibile la cerere).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate adăugând hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la o soluție de hipoclorit de sodiu de 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfectare eficientă.
6. Eventuale scurgeri de materiale potențial infectate trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu soluție de hipoclorit de sodiu de 1%, înainte de a continua activitatea. Dacă este prezent un acid, nu utilizați hipocloritul de sodiu înainte de uscarea zonei.

Toate materialele utilizate pentru a decontamina scurgerile accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infectate.

Nu așezați în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, așteptați ca dispozitivele care vor fi utilizate să ajungă la temperatura camerei (18-30 °C) și utilizați în interval de 60 de minute.

1. **Înlăturați dispozitivul cu substrat (godeul 4) de culoare albastră.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fundul godeului.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în sine. Nu folosiți dispozitive din care lipsesc reactivi și / sau dacă observați corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul CHORUS TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.
Utilizarea kit-ului este posibilă doar dacă este instalată versiunea actualizată a programului software. Asigurați-vă că programul software instalat pe instrument coincide sau are versiunea de lansare (Rel.) superioară celei prezentate în tabelul publicat pe website-ul Diesse.
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Verificați dacă instrumentul CHORUS TRIO este setat corect (consultați Manualul utilizatorului).
6. Nu modificați codul de bare amplasat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (consultați Manualul utilizatorului).
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. Utilizarea probelor de ser foarte hemolizate, lipemice, icterice, care nu sunt complet coagulate sau a probelor care prezintă poluare microbiană poate fi o sursă de erori.
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
12. **Controlați ca instrumentul să fie conectat cu Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 86032).

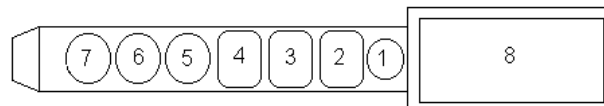
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 86032/12).

DD DISPOZITIVE

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

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

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII captusit cu dsDNA puternic purificat

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Solutie proteica continand Tween-20 0.2% si Proclin 0.1%.

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi monoclonali anti-umani IgG tapetate cu peroxidaza din hrean, in solutie tampon fosfat continand 0.05% fenol and 0.02% Bronidox.

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculețul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Continut: Soluție proteică care conține anticorpi specifici capabili să lege microplaca și conservantul. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 0.425 ml

Continut: Soluție proteică care conține anticorpi specifici capabili să lege microplaca și conservantul. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF) 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF) 83609
- SANITIZING SOLUTION (REF) 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF) 83607
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlărie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie

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

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

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

Testul nu poate fi aplicat pentru plasma.

8. PROCEDURA ANALIZEI

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

9. VALIDAREA TESTULUI

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

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

Rezultatele pot fi interpretate dupa cum urmeaza:

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

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

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

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

11. LIMITARI

Toate rezultatele pozitive necesita o interpretare atenta.

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

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

12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare 10.0-150.0 IU/ml.

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

13. ARIA DE REFERINTA

In randul populatiei normale, valorile asteptate, care au fost determinate prin examinarea a 120 de seruri provenite de la donatori sanatosi, s-au situat intre 10.0 si 13.2 IU/ml.

14. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 4 probe (2 negative si 2 pozitive) continand urmatoarele substante interferente:

Factor Reumatoid (44 IU/ml –110 IU/ml)
Bilirubina (45 mg/dl)
Trigliceride (1500 mg/dl)
Hemoglobina (10 mg/ml)

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

15. REACTIVITATEA INCRUCISATA

28 Au fost testate probe pozitive la: tTG-A, tTG-G, Gliadin-G, MPO, PR3, CCP, RF-M si ASCA.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

16. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

In cadrul unui experiment, 157 de probe au fost testate cu kitul Diesse si cu alt kit disponibil pe piata.

Rezultatele sunt redade in tabelul urmatoare:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	39	3	42
	-	1	114	115
	Total	40	117	157

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului):
97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului):
97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

Valoare predictivă pozitivă (PPV): 92.9% IC_{95%}: 88.9-96.9
Valoare predictivă negativă (NPV): 99.1% IC_{95%}: 97.6-100.0

17. PRECIZIA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	12.8	14.0	11.1	10.5
2	66.9	12.8	77.7	10.4
3	107.4	12.9	115.2	7.3
4	136.4	12.3	135.8	10.2
5	139.0	6.8	107.6	13.8
6	11.8	10.6	11.2	8.5

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	11.4	9.8	11.4	12.8
2	66.8	12.3	72.0	13.2
3	120.4	12.6	119.9	11.9
4	140.8	5.3	141.5	6.8
5	121.5	13.2	114.0	13.4
6	12.2	8.4	11.2	7.2

18. BIBLIOGRAFIE

1. Itoh Y. and Reighlin M. (1992) Autoimmunity 14: 57-65.
2. Kalden JR (1988) In: Klinische Rheumatologie. Springer Verlag, Berlin.
3. Harley JB (1998) J. Autoimmun. 2 : 383-394.
4. Slobbe RL et al : (1991) Clin. Exp. Immunol. 86 : 99-105.
5. Aringer, M.et al. (2019). Arthritis Rheumatol 71, 1400–1412.

	IT	Data di fabbricazione	ES	Fecha de fabricación
	EN	Date of manufacture	FR	Date de fabrication
	CS	Datum výroby	PT	Data de fabrico
	EL	Ημερομηνία Παραγωγής	RO	Дата изготовления
	IT	Utilizzare entro	ES	Fecha de caducidad
	EN	Use By	FR	Utiliser jusque
	CZ	Použitelné do	PT	Prazo de validade
	EL	Ημερομηνία λήξης	RO	Срок годности
	IT	Non riutilizzare	ES	No reutilizar
	EN	Do not reuse	FR	Ne pas réutiliser
	CS	Nepoužívejte opakovaně	PT	Não reutilizar
	EL	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση	RU	Не использовать повторно
	IT	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES	Atención, ver instrucciones de uso
	EN	Caution, consult accompanying documents	FR	Attention voir notice d'instructions
	CS	Pozor, čtěte příložené dokumenty	PT	Atenção, consulte a documentação incluída
	EL	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα	RO	Внимание, см. инструкцию по применению
	IT	Fabricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	CS	Výrobce	PT	Fabricante
	EL	Κατασκευαστής	RO	Производитель
	IT	Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN	Contains sufficient for <n> tests	FR	Contenu suffisant pour "n" tests
	CS	Obsah stačí na <n> testů	PT	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EL	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	RO	Содержит материал для «n» тестов
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límite de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	CS	Teplotní omezení	PT	Limites de temperatura
	EL	Περιορισμοί θερμοκρασίας	RU	Температурные пределы
	IT	Consultare le istruzioni per l'uso	ES	Consulte las instrucciones de uso
	EN	Consult Instructions for Use	FR	Consulter les instructions d'utilisation
	CS	Čtěte návod k použití	PT	Consulte as instruções de utilização
	EL	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	RO	См. инструкцию по применению
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risques biologiques
	CS	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	EL	Βιολογικοί κίνδυνοι	RO	Биологическая угроза
REF	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Référence du catalogue
	CS	Katalogové číslo	PT	Referência de catálogo
	EL	Αριθμός καταλόγου	RO	Номер в каталогe
IVD	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CS	Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EL	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	RO	Медицинское оборудование для диагностики in vitro
LOT	IT	Codice del lotto	ES	Código de lote
	EN	Batch code	FR	Code du lot
	CS	Kód šarže	PT	Código do lote
	EL	Αριθμός Παρτίδας	RU	Код партии
CE	IT	Marcatura CE di conformità	ES	Marcado CE de conformidad
	EN	CE marking of conformity	FR	Marquage de conformité CE
	CS	Označení shody CE	PT	Marcação CE de conformidade
	EL	Σημάνση συμμόρφωσης CE	RO	Маркировка соответствия CE