CHORUS

GBM

REF 86070

REF 86070/12

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** **Cambios introducidos en la revisión actual** **Alterações introduzidas na revisão atual**	**REF – 5 – 6**

CE

DIESSE

ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS GBM

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-proteina di Membrana Basale Glomerulare (GBM)

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-proteina di Membrana Basale Glomerulare (GBM) nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La sindrome di Goodpasture è una malattia autoimmune dei reni, così denominata in seguito agli studi condotti da Ernest Goodpasture, che fu il primo a descrivere la coesistenza di una emorragia polmonare letale associata ad una glomerulonefrite proliferativa.
Oggi tale sindrome viene considerata una malattia autoimmune costituita dalla triade di glomerulonefrite, emorragia polmonare e formazione di anticorpi diretti verso la membrana glomerulare basale. L'incidenza di tale sindrome varia da circa 0.5 ad 1 caso/milione di persone all'anno. Essa rappresenta una grave emergenza medica con un'incidenza di decesso del 75 - 90 %, se non viene trattata, a causa dell'insufficienza renale e respiratoria. La disfunzione è caratterizzata istologicamente dalla formazione lineare continua di immunoglobuline lungo la membrana glomerulare basale (GBM). L'immunofluorescenza diretta su biopsie renali può essere utilizzata per evidenziare tale deposizione. Oggi il metodo sierologico in uso è costituito dalla determinazione degli autoanticorpi diretti al terminale-C della catena α-3 del collagene tipo VI.
Le membrane glomerulari basali (GBM) costituiscono una barriera anatomica laddove il tessuto epiteliale viene a contatto con il tessuto connettivale. Il collageno di tipo VI è esclusivo per il GBM e forma una matrice nella quale vengono integrate altre molecole (e.g. Laminina, Entactina). Delle sei catene-α (polipeptidi con più di 1650 aminoacidi), tre formano una triplice elica e caratterizzano le subunità strutturali del collagene di tipo IV.
Gli autoanticorpi specifici anti-GBM di Goodpasture sono diretti verso il dominio NC1 di 29 kDa della catena α-3 del collagene di tipo VI della GBM. In seguito alla caratterizzazione dell' antigene, la diagnosi oggi viene stabilita attraverso la dimostrazione delle tre disfunzioni: glomerulonefrite, emorragia polmonare ed anticorpi diretti alla catena α-3 del collagene di tipo VI della GBM.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus GBM è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-proteina di Membrana Basale Glomerulare (GBM), negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.
Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con siero umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi anti-immunoglobuline umane coniugate con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.
I risultati sono espressi in Unità Arbitrarie (AU/ml).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Avvertenze analitiche

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

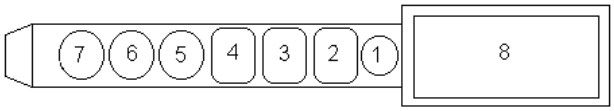
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86070).
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86070/12).

DD DISPOSITIVI
6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86070).
2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86070/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre
Posizione 7: Vuota
Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA
Sensibilizzato con proteina di Membrana Basale Glomerulare
Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA
Non sensibilizzato.
Posizione 4: SUBSTRATO TMB
Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H_2O_2 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)
Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI
Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%)
Posizione 2: CONIUGATO
Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgG umane marcati con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.
Posizione 1: POZZETTO VUOTO
Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.175 ml**
Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-proteina di Membrana Basale Glomerulare (GBM) e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO **1 x 0.425 ml**
Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-proteina di Membrana Basale Glomerulare (GBM) 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 83608 - 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).
La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.
Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.
Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a –20°C.
Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti.
Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.
L'inattivazione al calore può fornire risultati erronei.
La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erronei.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 18.0
NEGATIVO: quando il risultato è < 12.0
DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 12.0 e 18.0

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0-100.0 AU/ml.
Per campioni > 100.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. SPECIFICITA' ANALITICA

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

Fattore Reumatoide (44-220 IU/ml)
Bilirubina (4.5-45 mg/dl)
Trigliceridi (10-250 mg/dl)
Emoglobina (5-30 mg/ml)

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

14. CROSS-REATTIVI

6 campioni, positivi a β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2 sono stati testati.
Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 74 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio
Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

	Riferimento		
	+	-	Totale

Diesse	**+**	11	1	12
	-	0	62	62
	Totale	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):
100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):
98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.96.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Campione	Tra lotti	
	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3
2	46.6	10.8
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. BIBLIOGRAFIA

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

CE

DIESSE

INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS GBM

For the semiquantitative determination of IgG antibodies anti-Glomerular Basement Membrane protein (GBM)

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgG class antibodies against Glomerular Basement Membrane protein (GBM) in human serum, using a disposable device applied on the chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Goodpasture syndrome is an autoimmune disorder of the kidneys, named after Ernest Goodpasture, who was the first to describe the coexistence of a fatal lung hemorrhage coming along with proliferative glomerulonephritis. Nowadays, this syndrome is considered to be an autoimmune disorder consisting of a triad of glomerulonephritis, lung hemorrhage and anti-glomerular basement antibodies formation. Incidence of the Goodpasture syndrome ranges about 0.5 to 1 cases per million inhabitants per year. Goodpasture syndrome is of high medical emergency with a case fatality rate of 75 to 90 %, due to kidney and respiratory insufficiency, if not treated. The disorder is characterized histologically by continuous linear deposition of immunoglobulins along the glomerular basement membrane (GBM). Demonstration by direct immunofluorescence on kidney biopsies is possible.
Today, the determination of circulating autoantibodies against the C-terminus of the α-3 chain of type VI collagen is the state-of-the art serology.
Glomerular basement membranes (GBM) are an anatomical barrier wherever epithelia meets connective tissue. Type VI collagen is exclusive to GBM and forms a matrix in which additional molecules (e.g. Laminin, Entactin) are integrated. Three out of six α-chains (polypeptides with more than 1650 amino acids) are forming a triple helix and characterize the structural subunits of type IV collagen.
Goodpasture specific anti-GBM autoantibodies are directed against the 29 kDa NC1 domain of the α-3 chain of type VI collagen of GBM. Following the characterization of the antigen, diagnosis is established today by demonstrating the triad of glomerulonephritis, lung hemorrhage and antibodies against the α-3 chain of type VI collagen of GBM.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus GBM device is ready to use for the detection of IgG antibodies against Glomerular Basement Membrane protein (GBM) , in the Chorus/ Chorus TRIO instruments.
The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay). The antigen is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted human serum. After washing to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-human immunoglobulins antibodies conjugated to horse radish peroxidase.
The unbound conjugate is eliminated and the peroxidase substrate is added. The colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.
The disposable devices contain all the reagents to perform the test in the Chorus/Chorus TRIO instruments.
The results are expressed in Arbitrary Units (AU/ml).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

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

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

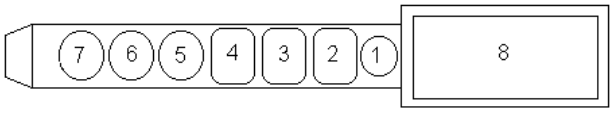
1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged. Do not use devices which are lacking a reagent and/or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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86070).
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86070/12).

DD DEVICES
6 packages each containing 6 devices (REF 86070).
2 packages each containing 6 devices (REF 86070/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label
Position 7: Empty
Position 6: MICROPLATE WELL
coated with Glomerular Basement Membrane protein

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE
Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H_2O_2 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)
Position 3: SAMPLE DILUENT
Contents: saline proteic solution with Proclin (0.1%)
Positon 2: CONJUGATE
Contents: anti-human IgG monoclonal antibodies labeled with horse radish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.
Position 1: EMPTY WELL
in which undiluted serum must be added

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

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.175 ml**
Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Glomerular Basement Membrane protein (GBM) and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL **1 x 0.425 ml**
Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Glomerular Basement Membrane protein (GBM) and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED
- WASHING BUFFER AUTOIMUNITY REF 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Chorus/Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

POSITIVE CONTROL 8 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

8. ASSAY PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 18.0
NEGATIVE: when the result is < 12.0
DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 12.0 and 18.0

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

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.
The test, indeed, can not be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0 – 100.0 AU/ml.
For samples > 100.0 AU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (PF83607-not supplied with the kit).

13. ANALITICAL SPECIFICITY

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

Rheumatoid factor (44-220 IU/ml)
Bilirubin (4.5-45 mg/dl)
Triglycerides (10-250 mg/dl)
Hemoglobin (5-30 mg/ml)

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

14. CROSS-REACTIONS

6 samples, positive to β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2 were tested.
No significant cross-reactions were found.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 74 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit .
Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Tot.	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):
100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):
98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.96.

16. PRECISION AND REPEATIBILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean AU/ml	CV%	Mean AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Sample	Between lots	
	Mean AU/ml	CV%
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. REFERENCES

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

DIESSE

NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS GBM

PRO semikvantitativní STANOVENI IgG protilátek proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM)

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgG protilátek proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM) v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Goodpastureův syndrom je autoimunitní porucha ledvin, pojmenovaná po Ernestu Goodpastureovi, který jako první popsal koexistenci fatálního plicního krvácení s proliferační glomerulonefritidou.

V současné době je tento syndrom považován za autoimunitní poruchu, která se skládá z triády glomerulonefritidy, plicního krvácení a formace protilátek proti bazální membráně glomerulů. Výskyt Goodpastureova syndromu se pohybuje zhruba od 0,5 do 1 případu na milion obyvatel za rok. Goodpastureův syndrom je z lékařského hlediska velmi naléhavý, protože bez léčby se u něj pohybuje úmrtnost mezi 75 a 90 % následkem selhání ledvin a respirační insuficience. Histologicky tuto poruchu charakterizuje kontinuální lineární ukládání imunoglobulinů na bazální membránu glomerulů (GBM). Demonstrace přímou imunofluorescencí na ledvinové biopsii je možná. Nejmodernější postup v serologii v současné době představuje stanovení kolujících autoprotilátek proti C-terminálu α-3 řetězce kolagenu typu VI.

Bazální membrány glomerulů (GBM) jsou anatomickou bariérou v místě styku epitelu s pojivovou tkání. Kolagen typu VI je výlučný pro GBM a tvoří prostředí v němž jsou integrovány další molekuly (např. laminin, entactin). Tři z šesti α-řetězců (polypeptidy s více než 1650 aminokyselinami) tvoří trojitou spirálu a charakterizují strukturní podjednotky kolagenu typu IV.

Goodpastureovy specifické anti-GBM autoprotilátky jsou zaměřeny proti 29 kDa NC1 doméně α-3 řetězce kolagenu typu VI GBM. Na základě charakterizace antigenu se dnes diagnóza provádí prokázáním triády glomerulonefritidy, plicního krvácení a protilátek proti α-3 řetězci kolagenu typu VI GBM.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus GBM je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM), v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

Konjugát, který nereagoval, je eliminován a přidá se peroxidázový substrát. Zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagencie potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Arbitrární jednotky (AU/ml).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
10. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagencií obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem

kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu
Než nástroje použijete, nechejte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) a použijte je do 60 min.

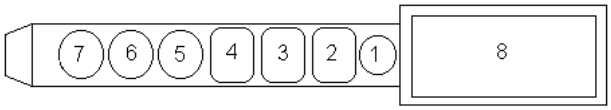
13. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
14. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
15. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagencie a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagencie, nebo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

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86070).
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86070/12).

DD NÁSTROJE
6 balení po 6 nástrojích (REF 86070).
2 balení po 6 nástrojích (REF 86070/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem
Pozice 7: prázdná
Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA
Potažená proteinem Glomerulární Bazální Membrány
Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA
Pozice 4: TMB SUBSTRÁT
Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H_2O_2 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)
Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU
Obsah: solný bílkovinný roztok s Proclinem (0.1%)
Pozice 2: KONJUGÁT
Obsah: monoklonální anti-lidské protilátky IgG značené křenovou peroxidázou, **VE FOSFÁTOVÉM PUFRU OBSAHUJÍCÍM 0.05% FENOL A 0.02% BRONIDOX.**
Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA
do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR **1 x 0.175 ml**
Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM) a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA **1 x 0.425 ml**
Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti proteinu Glomerulární Bazální Membrány (GBM) a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagencie 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.

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

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

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek **>** 18.0
NEGATIVNÍ: je-li výsledek **<** 12.0
SPORNÉ/NEJASNÉ: PRO VŠECHNY HODNOTY MEZI 12.0 a 18.0

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

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta.
Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 3.0-100.0 AU/ml
Pro vzorky > 100.0 AU/ml znova vzorek otestujte naředěný v ředidle pro negativní kontrolní vzorek (PF83607 – se v rámci soupravy nedodává).

13. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

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

Revmatoidní faktor (44-220 IU/ml)
Bilirubin (4.5-45 mg/dl)
Triglyceridy (10-250 mg/dl)
Hemoglobin (5-30 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séra nezměnila výsledky testu.

14. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 6 vzorky pozitivní na β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.
NEBYLY ZJISTENY ZADNE VÝZNAMNE ZKRIZENE REAKCE.

15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 74 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.
Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	–	Celkem
Diesse	+	11	1	12
	–	0	62	62
	Celkem	11	63	74

Procento pozitivní shody (~diagnostická citlivost):
100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Procento negativní shody (~diagnostická specifičnost):
98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s Cohenovou Kappa dosahující 0.96.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr AU/ml	CV %	Průměr AU/ml	CV %
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi	
	Průměr AU/ml	CV %
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

CE

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS GBM

Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG εναντιον της πρωτεϊνης της βασικης σπειραματικης μεμβρανης (GBM)

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG εναντιον της πρωτεϊνης της βασικης σπειραματικης μεμβρανης (GBM) στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Σύνδρομο Goodpasture είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα των νεφρών και ονομάστηκε έτσι μετά τις μελέτες που έκανε πάνω σ' αυτό ο Ernest Goodpasture, ο πρώτος που περιέγραψε την συνύπαρξη μίας θανατηφόρου πνευμονικής αιμορραγίας συνδυασμένης με μία εκφυτική σπειραματονεφρίτιδα.

Σήμερα αυτό το σύνδρομο θεωρείται ως ένα αυτοάνοσο νόσημα που έχει ως συμπτώματα την σπειραματονεφρίτιδα, την πνευμονική αιμορραγία και τον σχηματισμό αντισωμάτων που κατευθύνονται εναντίον της βασικής σπειραματικής μεμβράνης. Το ποσοστό εμφάνισης αυτού του συνδρόμου ποικίλλει από 0.5 μέχρι 1 περίπτωση/εκατομμύριο ατόμων το χρόνο. Πρόκειται για επείγον ιατρικό περιστατικό με ποσοστό θνησιμότητας που φτάνει το 75-90 %, σε περίπτωση που δεν τύχει θεραπευτικής αγωγής, λόγω νεφρικής και αναπνευστικής ανεπάρκειας. Η δυσλειτουργία χαρακτηρίζεται, ιστολογικά από τον συνεχή γραμμικό σχηματισμό ανοσοσφαιρινών κατά μήκος της βασικής σπειραματικής μεμβράνης (GBM). Ο άμεσος ανοσοφθορισμός πάνω σε νεφρικό υλικό βιοψίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί μία τέτοια διάγνωση. Σήμερα η χρησιμοποιούμενη ορολογική μέθοδος αποτελείται από τον προσδιορισμό των αυτοαντισωμάτων που κατευθύνονται εναντίον του τερματικού-C της αλυσίδας α-3 του κολλαγόνου τύπου VI.

Οι βασικές σπειραματικές μεμβράνες (GBM) αποτελούν ένα ανατομικό φράγμα εκεί όπου ο επιθηλιακός ιστός έρχεται σε επαφή με τον συνδετικό ιστό. Το κολλαγόνο τύπου VI είναι κύριο συστατικό της GBM και σχηματίζει ένα δίκτυο στο οποίο ενώνονται άλλα μόρια (π.χ. Λαμινίνη, Εντακτίνη). Από τις έξι αλυσίδες-α (πολυπεπτίδια με περισσότερα από 1650 αμινοξέα), τρεις σχηματίζουν μία τριπλή έλικα που χαρακτηρίζουν τις δομικές υπο-μονάδες του κολλαγόνου τύπου IV. Τα ειδικά αυτοαντισώματα αντι-GBM του Goodpasture κατευθύνονται εναντίον της περιοχής NC1 29 kDa της αλυσίδας α-3 του κολλαγόνου τύπου VI της GBM. Μετά από τον χαρακτηρισμό του αντιγόνου, σήμερα η διάγνωση πραγματοποιείται μέσω της απόδειξης των τριών δυσλειτουργιών: σπειραματονεφρίτιδα, πνευμονική αιμορραγία και αντισώματα εναντίον της αλυσίδας α-3 του κολλαγόνου τύπου VI της GBM.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus GBM είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG εναντιον της πρωτεϊνης της βασικης σπειραματικης μεμβρανης (GBM), στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.

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

Αναλυτικές οδηγίες

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

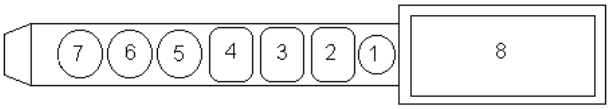
1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ιδίου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηράτις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυπαιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
12. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86070).
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86070/12).

DD ΣΕΤ
6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86070).
2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86070/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα
Θέση 7: Κενή
Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ
Ευαισθητοποιημένη από πρωτεΐνη βασικής σπειραματικής μεμβράνης
Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ
Μη ευαισθητοποιημένη.
Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB
Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H_2O_2 0.01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0.05 mol/L (pH 3.8)
Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ
Περιεχόμενο: ρυθμιστικό πρωτεϊνικό διάλυμα που εμπεριέχει 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
Σε αυτή την κυψελίδα ο χρήστης πρέπει να βάλει τον μη διαλυμένο ορό.

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ **1 x 0.175 ml**

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG εναντιον της πρωτεϊνης της βασικης σπειραματικης μεμβρανης (GBM) και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ **1 x 0.425 ml**
Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG εναντιον της πρωτεϊνης της βασικης σπειραματικης μεμβρανης (GBM) και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος δείγματος αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.
Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις από την χρησιμοποίηση άλλων βιολογικών υγρών.
Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C.; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους –20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές.
Αποφεύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για τη διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.
Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.
Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από την μικροβιακή μόλυνση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18.0
ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12.0
ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 12.0 και 18.0

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.
Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδιασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 3.0-100.0 AU/ml
Για δείγματα > 100.0 AU/ml επαναλάβετε το τεσταραιώνοντας πρώτα το δείγμα σε Negative Control/Sample Diluent (Αρνητικό Έλεγχο/Δείγμα Διαλύτη) (PF83607- δεν παρέχεται με το κιτ).

13. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

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

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 IU/ml)
Χολερυθρίνη (4.5-45 mg/dl)
Τριγλυκερίδια (10-250 mg/dl)
Αιμοσφαιρίνη (5-30 mg/ml)

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

14. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 6 δείγματα, θετικά στα β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.
Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 74 δείγματα με το κιτ Diesse και με ένα άλλο κιτ του εμπορίου.
Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Σύνολο	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία): 100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement (~Διαγνωστική ειδικότητα): 98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός με τιμή K (σταθερά του Cohen) 0.96.

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή AU/ml	CV%	Μέση Τιμή AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων	
	Μέση Τιμή AU/ml	CV%
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

CE

DIESSE

INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS GBM

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-proteína de la Membrana Basal Glomerular (GBM)

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-proteína de la Membrana Basal Glomerular (GBM) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

El síndrome de Goodpasture es una dolencia renal autoinmune, llamado así por Ernest Goodpasture, que fue el primero en describir la coexistencia de una hemorragia pulmonar fatal con glomerulonefritis proliferativa.
Hoy en día este síndrome se considera una dolecia autoinmune que consiste de una tríada de glomerulonefritis, hemorragia pulmonar y la formación de anticuerpos anti-membrana basal glomerular.
La incidencia del síndrome de Goodpasture está sobre 0.5 a 1 casos por millón de habitantes y por año. El síndrome de Goodpasture es de elevada emergencia médica con un ratio de casos fatales, si no se da tratamiento, del 75 al 90%, debido a insuficiencia renal y respiratoria. La dolencia se caracteriza histológicamente por una deposición lineal continua de inmunoglobulinas a lo largo de la membrana basal glomerular (GBM). Es posible la demonstración por inmunofluorescencia directa en biopsias de riñón.
Actualmente, la determinación de autoanticuerpos circulantes contra el C-terminal de la cadena α-3 del colágeno tipo IV es la serología de vanguardia.
Las membranas basalesd glomerulares (GBM) son una barrera anatómica en donde el epitelio se encuentra con el tejido conectivo. El colágeno del tipo IV es exclusivo de la GBM y forma una matriz en la cual se integran moléculas adicionales (p.e. Laminina, Entactina). Tres de cada seis cadenas-α (polipéptidos con mas de 1650 aminoácidos) forman una triple hélice y caracterizan las subunidades estructurales del colágeno tipo IV.
Los autoanticuerpos anti-GBM específicos de Goodpasture se dirigen contra el dominio NC1 de 29 kDa de la cadena α-3 del colágeno tipo IV de la GBM. Después de la caracterización del antígeno, el diagnóstico hoy se establece demonstrando la tríada de glomerulonefritis, hemorragia pulmonar y anticuerpos contra la cadena α-3 del colágeno tipo IV de la GBM.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus GBM está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-proteína de la Membrana Basal Glomerular (GBM), en los equipos Chorus /Chorus TRIO.
El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida.
Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.
Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas conjugadas con peroxidasa de rábano.
El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.
Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus/Chorus TRIO.
El resultado se expresa en Unidades Arbitrarias (AU/ml).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

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

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

Precauciones analíticas

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

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

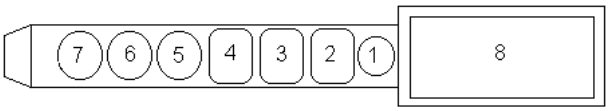
5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86070).
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86070/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86070).
2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86070/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras
Posición 7: libre
Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA
Sensibilizado con proteína de la Membrana Basal Glomerular
Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA
No sensibilizado.
Posición 4: SUSTRATO TMB
Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H_2O_2 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)
Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS
Contenido: solución proteica salina con Proclin (0.1%)
Posición 2: CONJUGADO
Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgG humanos marcados con peroxidasa, en una solución tampón fosfato con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.
Posición 1: POCILLO LIBRE
Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 ml**
Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-proteína de la Membrana Basal Glomerular (GBM) y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 0.425 ml**
Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-proteína de la Membrana Basal Glomerular (GBM) y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 18.0
NEGATIVO cuando el resultado es < 12.0
DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 12.0 y 18.0

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

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.
Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0-100.0 AU/ml.
Para muestras > 100.0 AU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/ Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

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

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

14. REACCIONES CRUZADAS

6 muestras, positivas en β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2 fueron testadas.
No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 74 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.
A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Total	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):
100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):
98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y, con un valor de K (constante de Cohen) de 0.96.

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Muestra	ENTRE LOTES	
	Media AU/ml	CV%
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

CE

DIESSE

INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS GBM

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM)

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Le Syndrome de Goodpasture est une maladie auto-immunitaire des reins, dénommée ainsi suite aux études conduites par Ernest Goodpasture, qui fut le premier à décrire la coexistence d'une hémorragie pulmonaire létale et d'une glomérulonéphrite proliférative.

Aujourd'hui, ce syndrome est considéré une maladie auto-immunitaire constituée de la triade de glomérulonéphrite, hémorragie pulmonaire et formation d'anticorps dirigés contre la membrane glomérulaire basale. L'incidence d'un tel syndrome varie d'environ 0.5 à 1 cas/million de personnes par an. Elle représente une urgence médicale grave avec une incidence de décès de 75 - 90 % si elle n'est pas traitée, à cause des insuffisances rénale et respiratoire. La dysfonction est caractérisée histologiquement par la formation linéaire continue d'immunoglobulines le long de la membrane glomérulaire basale (GBM). L'immunofluorescence directe sur biopsies rénales peut être utilisée pour mettre en évidence ce dépôt. Aujourd'hui, la méthode sérologique en usage est constituée de la détermination des auto-anticorps dirigés contre le terminal-C de la chaîne α-3 du collagène type VI.

Les membranes glomérulaires basales (GBM) constituent une barrière anatomique là où le tissu épithélial entre en contact avec le tissu conjonctif. Le collagène de type VI est exclusif pour la GBM et forme une matrice dans laquelle sont intégrées d'autres molécules (par exemple. Laminine, Entactine). Des six chaînes-α (polypeptides avec plus de 1650 aminoacides), trois forment une hélice triple et caractérisent les sous-unités structurelles du collagène de type IV.

Les auto-anticorps spécifiques anti-GBM de Goodpasture sont dirigés contre le domaine NC1 de 29 kDa de la chaîne α-3 du collagène de type VI de la GBM. Suite à la caractérisation de l'antigène, le diagnostique est aujourd'hui établi à travers la démonstration des trois dysfonctions: glomérulonéphrite, hémorragie pulmonaire et anticorps dirigés contre la chaîne α-3 du collagène de type VI de la GBM.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus GBM est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM), dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

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

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

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

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

Précautions analytiques

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

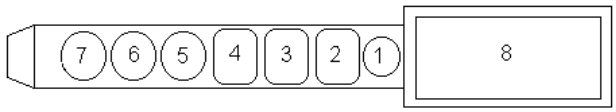
13. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
14. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
15. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser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

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86070).
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86070/12).

DD DISPOSITIFS
6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86070).
2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86070/12).

Description:



Position 8 : Espace disponible pour l'étiquette avec le code à barres
Position 7 : Vide
Position 6 : PUITS DE LA MICROPLAQUE
Sensibilisé avec proteine de la Membrane Basale Glomerulaire
Position 5 : PUITS DE LA MICROPLAQUE
Non sensibilisé.
Position 4 : SUBSTRAT TMB
Contenu : Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/ml et H_2O_2 à 0.01 % stabilisés dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH = 3.8)
Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS
Contenu : solution saline protéique contenant du Proclin (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 dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR **1 x 0.175 ml**
Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM) et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF **1 x 0.425 ml**
Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-proteine de la Membrane Basale Glomerulaire (GBM) et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

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

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

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé conformément aux procédures standard de laboratoire.
Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.
Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8°C; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à - 20 °C.
L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongélations.
Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongélation, agiter avec soin avant le dosage.
La non-activation à la chaleur peut provoquer des résultats erronés.
La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires pour réaliser les examens et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits n° 1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

Tél. : 0039 0577 319554
Fax : 0039 0577 366605
e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

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

POSITIF quand le résultat est > 18.0
NÉGATIF quand le résultat est < 12.0
DOUTEUX/ÉQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 12.0 et 18.0

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

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.
En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 3.0-100.0 AU/ml.
Pour les échantillons > 100.0 AU/ml répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - non fourni avec le coffret).

13. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

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

Facteur rhumatoïde (44-220 IU/ml)
Bilirubine (4.5-45 mg/dl)
Triglycérides (10-250 mg/dl)
Hémoglobine (5-30 mg/ml)

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

14. RÉACTIONS CROISÉES

6 échantillons positifs aux β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2 ont été testés.
Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 74 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.
Les données de l'essai sont schématisées ci-après :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Total	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :
100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) : 98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.96.

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne AU/ml	CV %	Moyenne AU/ml	CV %
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Échantillon	INTER-LOTS	
	Moyenne AU/ml	CV %
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

CE

DIESSE

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS GBM

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-proteína de Membrana Basal Glomerular (GBM)

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos de classe IgG anti-proteína de Membrana Basal Glomerular (GBM) no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A síndrome de Goodpasture é uma doença autoimune dos rins, assim chamada após os estudos conduzidos por Ernest Goodpasture, o qual foi o primeiro a descrever a coexistência de uma hemorragia pulmonar letal associada a uma glomerulonefrite proliferativa.
Actualmente, essa síndrome é considerada uma doença autoimune constituída pela tríade de glomerulonefrite, hemorragia pulmonar e formação de anticorpos dirigidos contra a membrana glomerular basal. A incidência dessas síndrome varia de aproximadamente 0,5 a 1 caso/milhão de pessoas por ano. Essa representa uma grave emergência médica com uma incidência de falecimentos de 75 a 90%, se não for tratada, devido a insuficiência renal e respiratória. A disfunção é caracterizada histologicamente pela formação linear contínua de imunoglobulinas ao longo da membrana glomerular basal (GBM). Pode ser utilizada a imunofluorescência directa em biopsias renais para evidenciar essa deposição. Actualmente, o método serológico em uso é constituído pela determinação dos auto-anticorpos dirigidos ao terminal-C da cadeia α-3 do colagénio tipo VI.
As membranas glomerulares basais (GBM) constituem uma barreira anatómica onde o tecido epitelial entra em contacto com o tecido conectivo. O colagénio de tipo VI é exclusivo para o GBM e forma uma matriz na qual são integradas outras moléculas (por ex.: Laminina, Entactina). Das seis cadeias α (polipéptidos com mais de 1650 aminoácidos), três formam uma espiral tripla e caracterizam as subunidades estruturais do colagénio de tipo IV.
Os auto-anticorpos específicos anti-GBM de Goodpasture são dirigidos contra o domínio NC1 de 29 kDa da cadeia α-3 do colagénio de tipo VI da GBM. Depois da caracterização do antigénio, actualmente o diagnóstico é estabelecido através da demonstração das três disfunções: glomerulonefrite, hemorragia pulmonar e anticorpos dirigidos à cadeia α-3 do colagénio de tipo VI da GBM.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus GBM está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG anti-proteína de Membrana Basal Glomerular (GBM), nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.
O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antigénio é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antigénio por incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase de rábano.
Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase. A cor que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro analisado.
Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.
O resultado é expresso em Unidades Arbitrárias (AU/ml).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.

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

Advertências analíticas

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

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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86070).

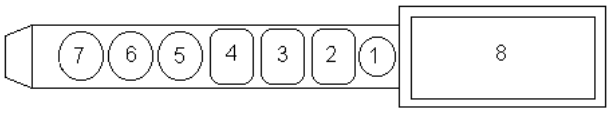
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86070/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86070).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86070/12).

Descrição:



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

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com proteína de Membrana Basal Glomerular

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL e H_2O_2 0.01% estabilizados em tampão citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina com Proclin (0.1%)

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 mL**

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG anti-proteína de Membrana Basal Glomerular (GBM) e conservante. Líquido, pronto a usar.

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

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG anti-proteína de Membrana Basal Glomerular (GBM) e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS:

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

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório.
Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.
O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a –20°C.
A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes.
Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.
A inativação ao calor pode levar a resultados errados.
A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

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

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 18.0
NEGATIVO quando o resultado for < 12.0
INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 12.0 e 18.0

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0-100.0 AU/ml.
Para amostras > 100.0 AU/ml repetir o teste diluindo primeiramente a amostra com o Negative Control/Sample Diluent (PF83607- não fornecido com o kit).

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

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

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

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

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

14. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 6 amostras, positivas em β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.
Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 74 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.
Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Total	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):
100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):
98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Constante de Cohen) de 0.96.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média AU/ml	CV%	Média AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Amostra	Entre Lotes	
	Média AU/ml	CV%
1	40.6	14.1
2	24.9	11.9
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. BIBLIOGRAFIA

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

DIESSE

INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS GBM

Pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor IgG impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale (GBM)

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor de clasa IgG impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale (GBM) in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Sindromul Goodpasture este o disfunctie autoimuna a richinilor, denumita dupa Ernest Goodpasture, care a fost primul care a descris coexistenta unei hemoragii fatale pulmonare insotite de glomerulonefrite proliferative. In zilele de azi, sindromul este considerat a fi o tublurare autoimunitara constand din grup de glomerulofrite, hemoragie pulmonara si formatiune de anticorpi bazali anti-glomerulari. Incidenta sindromului Goodpasture variaza intre 0.5 si 1 cazuri pe milion de locuitori pe an. Sindromul Goodpasture reprezinta o urgenta medicala cu o rata de fatalitate de 75 pana la 90 %, datorata insuficientei renale si respiratorii, daca nu este tratata. Disfunctia este caracterizata histologic prin depunerea linear continua a imunoglobulinelor de-alungul membranei glomerulare bazale (GBM). Demonstratia prin imunofluorescenta directa pe biopsia rinichiului este posibila. In prezent, determinarea autoanticorpilor circulanti impotriva C-terminus a lantului α-3 din tipul VI colagen este metoda standard serologica.

Membranele glomerulare bazale (GBM) sunt o bariera anatomica de cate ori epitelia intalneste tesut conjunctiv. Tipul VI colagen este exclusiv pentru GBM si formeaza o matrice in care moleculele aditionale (ex. Laminin, Entactin) sunt integrate. Trei din sase lanturi α (polipeptide cu mai mult de 1650 aminoacizi) formeaza un triplu helix si caracterizeaza subunitatile structurale de tipul IV.

Anticorpii Goodpasture specifici anti-GBM sunt directionati impotriva domeniului de 29 kDa NC1 al lantului α-3 al tipului VI colagen al GBM. Urmand caracterizarea antigenului, diagnosticul este stabilit astazi prin demonstrarea grupului de glomerulonefrite, hemoragia pulmonara si anticorpi impotriva lantului α-3 al tipului VI colagen al GBM.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus GBM este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgG impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale (GBM), pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antigenul este legat de faza solida.

Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubarea cu serul uman diluat. Dupa spalarile efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi imunoglobuline anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean.

Conjugatul care nu a participat la reactie este eliminat si este adaugat substratul de peroxidaza. Culoarea 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 TRIO.

Rezultatele sunt exprimate in Unitati Arbitrare (AU/ml).

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/ Chorus TRIO.
4. Consultati materialul corespunzator - Fisa Tehnica de Securitate (disponibila la cerere) pentru toate informatiile legate de securitatea reactivilor continuti de kit.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si,

inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

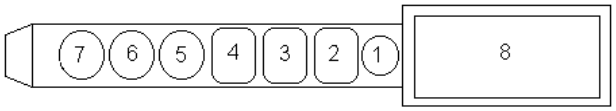
1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat. Nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
9. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
10. Folosirea probelor accentuat hemolizate, lipemice, icterice, din seruri necoagulate complet sau din probe care prezinta contaminare microbiana, pot constitui toate surse de eroare.
11. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
12. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Tampon de Spalare Autoimunitate (Ref. 86004).**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 86070).
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 86070/12).

DD DISPOZITIVE
6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86070).
2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86070/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare
Pozitia 7: gol
Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII
Captusit cu Glomerular Basement Membrane protein
Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit
Pozitia 4: TMB SUBSTRAT
Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL si H_2O_2 0.01% stabilizat in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)
Pozitia 3: PROBA DILUANT
Continut: solutie proteica salina cu 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 pliculetul 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: Ser uman diluat continand IgG anticorpi impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV **1 x 0.425 ml**
Continut: Ser uman diluat continand IgG anticorpi impotriva proteinei Membranei Glomerulare Bazale si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMUNITY REF 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlarie 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.
Posibile consecinte aparute in urma folosirii altor lichide biologice, nu sunt cunoscute.
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 frigidere 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.

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 Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare al instrumentului. 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/Chorus TRIO exprima rezultatele in Unitati Arbitrare (AU/ml) calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memeoria instrumentului.

Testul pe serul examinat, poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este > 18.0
NEGATIV: cand rezultatul este < 12.0
INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 12.0 si 18.0

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

11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient.
Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. 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: 3.0-100.0 AU/ml.
Pentru probele cu un titru > 100.0 AU/ml, repetati testul pre-diluand proba cu Negative Control Sample Diluent (PF83607 – care nu este furnizat impreuna cu kitul).

13. SPECIFICITATEA ANALITICA

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

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

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

14. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 6 probe pozitive la: β-2-Glycoprotein, Cardiolipin, Gliadin, LKM-1, ASCA, AMA-M2.
Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

15. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 74 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.
Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	11	1	12
	-	0	62	62
	Total	11	63	74

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului): 100.0% $CI_{95\%}$: 74.1-99.7
Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului): 98.4% $CI_{95\%}$: 91.5-99.7

Acordul dintre cele doua metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.96.

16. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3	55.2	9.8
2	46.6	10.8	50.1	9.3
3	< 3.0	-	< 3.0	-
4	< 3.0	-	< 3.0	-
5	< 3.0	-	< 3.0	-

Proba	Precizia intre loturi	
	Media AU/ml	CV%
1	56.3	9.3
2	46.6	10.8
3	< 3.0	-
4	< 3.0	-
5	< 3.0	-

17. BIBLIOGRAFIE

1. Goodpasture, E. W.: The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am J Med Sci 158 (1919), 864 – 870
2. Lerner, R. A., et al.: The role of anti-glomerular basement membrane antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J Exp Med 126 (1967), 989 – 1004

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

CE

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