

CHORUS

AMA-M2

REF 86084

REF 86084/12



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

	Capitolo Section Kapitola Κεφάλαιο Capítulo Chapitre Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Změny zavedené v aktuální revizi Αλλαγές που εισήχθησαν στην τρέχουσα αναθεώρηση Cambios introducidos en la revisión actual Modifications introduites dans la révision actuelle Mudanças introduzidas na revisão atual	4-5-13-14-15-17





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS AMA-M2

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-M2

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-M2 nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La cirrosi biliare primaria è una malattia infiammatoria cronica dei dotti biliari piccoli e medi, caratterizzata sierologicamente dalla presenza di autoanticorpi anti-antigene M2. Gli anticorpi anti-M2 fanno parte degli anticorpi anti-mitochondriali (AMA) e reagiscono in modo eterogeneo contro tre proteine affini del complesso alfa-keto acido-deidrogenasi, localizzato sulla membrana mitocondriale interna. La maggior parte degli epitopi che si legano all'anticorpo si trovano sulla subunità E2 e sulla proteina X del complesso piruvato-deidrogenasi (PDC). Inoltre, gli anticorpi anti-AMA-M2-G sul PDC riconoscono la subunità E1 (alfa e beta) e la subunità E2 di altri complessi multienzimatici, come ad esempio il complesso 2-oxo-glutarato-deidrogenasi (OGDC) e il complesso *branched chain* 2-oxo acido-deidrogenasi (BCOADC).

La determinazione degli autoanticorpi anti-AMA-M2-G è di fondamentale importanza per la diagnosi della cirrosi biliare primaria.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus AMA-M2 è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-M2, 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 sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus/Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.

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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86084).

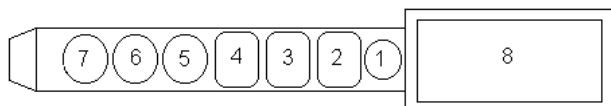
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86084/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86084).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86084/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con proteina M2 ricombinante

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%)

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-AMA M2 e conservante. Liquido, pronto all'uso

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-AMA M2 e conservante. Liquido, pronto all'uso

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio. Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

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

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

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 18 AU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0 – 300.0 AU/ml

Per campioni > 300.0 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 2 campioni (1 Negativo, 1 Positivo) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 – 220 IU/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Emoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

14. CROSS-REATTIVI

27 campioni, positivi a ANA, ASCA e HCV sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 385 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Totale	67	318	385

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

98.5% CI_{95%}: 92.0 -99.7

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

99.0% CI_{95%}: 98.2-99.9

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

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media AU/ml	CV%		Media AU/ml
1	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media AU/ml	CV%		Media AU/ml
1	3.8	6.3	1	3.8
2	33.9	5.2	2	33.9
3	70.6	7.8	3	70.6

17. BIBLIOGRAFIA

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.
3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283–307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS AMA-M2

For the semiquantitative determination of IgG antibodies anti-M2

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgG class antibodies against anti-M2 in human serum, using a disposable device applied on the chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic inflammatory disorder of the small and medium bile ducts and serologically characterized by the presence of circulating M2 autoantibodies. Anti-M2 autoantibodies belong to the group of anti-mitochondrial antibodies (AMA). The heterogeneously reacting specific AMA of the M2 subtype are directed against three related proteins of the alpha-keto acid dehydrogenase complex, which is located at the inner mitochondrial membrane. The major epitope recognized is located on the E2 subunit and the protein X of the pyruvate dehydrogenase complex (PDC). Additionally, AMA-M2-G autoantibodies recognize the (E1 alpha and E1 beta) subunits of the same complex and the E2 subunit of several other multienzyme complexes, such as the 2-oxo-glutarate dehydrogenase complex (OGDC) and the branched chain 2-oxo acid dehydrogenase complex (BCOADC).

The determination of AMA-M2-G is a powerful tool in diagnosing PBC.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus AMA-M2 device is ready to use for the detection of IgG antibodies against M2, 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 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 86084).

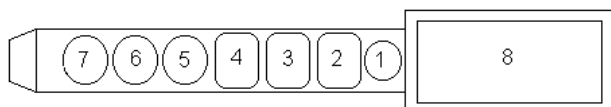
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86084/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86084).

2 packages each containing 6 devices (REF 86084/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with M2 recombinant protein

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: saline protein solution containing Proclin (0.1%)

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgG monoclonal antibodies labeled with horse radish peroxidase.

Position 1: EMPTY WELL

in which undiluted serum must be added

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in

the bag with the silica gel, expel the air and **seal** by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

Contents: Diluted human serum containing anti-AMA M2 IgG antibodies and preservative

CONTROL + POSITIVE CONTROL

Contents: Diluted human serum containing anti-AMA M2 IgG antibodies and preservative

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED:

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 18 AU/ml

NEGATIVE: when the result is < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITATIONS

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

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0 – 300.0 AU/ml

For samples > 300.0 AU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (PF83607-not supplied with the kit).

13. ANALITICAL SPECIFICITY

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

Rheumatoid factor (44-220 IU/ml)

Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglycerides (10 mg/dl - 250 mg/dl)

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

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

14. CROSS-REACTIONS

27 samples, positive to ANA, ASCA and HCV were tested.

No significant cross-reactions were found.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 385 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Tot.	67	318	385

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):
98.5% CI_{95%}: 92.0-99.7

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):
99.7% CI_{95%}: 98.2 -99.9

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

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean AU/ml	CV%	Mean AU/ml	CV%
1	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean AU/ml	CV%	Mean AU/ml	CV%
1	3.8	6.3	3.6	7.2
2	33.9	5.2	35.9	14.7
3	70.6	7.8	65.0	14.8

17. REFERENCES

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.
3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283–307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS AMA-M2

PRO semikvantitativní STANOVENÍ IgG ANTI-M2 PROTILÁTEK

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgG protilátek proti M2 v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Primární biliární cirhóza je chronické zánětlivé onemocnění malých a středních žlučových cest, sérologicky charakterizované přítomností autoprotilátek proti antigenu M2. Protilátky anti-M2 jsou součástí antimitochondriálních protilátek (AMA) a reagují heterogenním způsobem proti afinitním proteinům komplexu BCKDH vyskytujícím se na vnitřní mitochondriální membráně. Většina epitopů, které se vážou na protilátku, se nachází na podjednotce E2 a na proteinu X komplexu pyruvátdehydrogenázy (PDC). Protilátky anti AMA-M2-G na PDC rozpoznávají podjednotku E1 (alfa a beta) a podjednotku E2 jiných multienzymatických komplexů, jako například komplex 2-oxoglutarát dehydrogenázy (OGDC) a komplex BCOADC.

Stanovení autoprotilátek anti-AMA-M2-G má velký význam pro diagnózu primární biliární cirhózy.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus AMA-M2 je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti M2, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

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

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky 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. při použití

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

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

Opatření pro správné provedení testu

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

13. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
14. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
15. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.

16. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze zařízení).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
20. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
21. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
22. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonalé koagulované 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 86084).

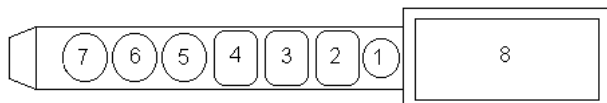
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86084/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86084).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86084/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená rekombinantním proteinem M2

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

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

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: roztok solného proteinu obsahující ProClin (0,1%)

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu, otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku

se silikagelem, vytlačte vzduch a **uzavřete** stisknutím. Skladujte při teplotě 2–8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG anti-AMA M2 a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

Obsah: Zředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG anti-AMA M2 a konzervant. Kapalina, připravená k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

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

8. POSTUP

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

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 18 AU/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12 AU/ml

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

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

11. OMEZENÍ

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

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 3.0-300.0 AU/ml.

Pro vzorky > 300.0 AU/ml znova vzorek otestujte naředěný v ředidle pro negativní kontrolní vzorek (PF83607 – se v rámci soupravy nedodává).

13. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 2 vzorků (1 negativní, 1 pozitivní) obsahujících následující rušivé substance.

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

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séranezměnila výsledky testu.

14. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 27 vzorky pozitivní na ANA, ASCA a HCV.

NEBYLY ZJISTENY ŽADNE VÝZNAMNE ZKŘÍŽENÉ REAKCE.

15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 385 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Celkem	67	318	385

Procento pozitivní shody (~diagnostická citlivost):

98.5% CI_{95%}: 92.0 -99.7

Procento negativní shody (~diagnostická specifita):

99.7% CI_{95%}: 98.2-99.9

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 0.96.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr AU/ml	CV %	Průměr AU/ml	CV %
1	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr AU/ml	CV %	Průměr AU/ml	CV %
1	3.8	6.3	3.6	7.2
2	33.9	5.2	35.9	14.7
3	70.6	7.8	65.0	14.8

17. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.
3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283–307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS AMA-M2

Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG αντί-M2

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG αντί-M2 στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πρωτοπαθής χολική κίρρωση είναι μία χρόνια φλεγμονώδης νόσος των μικρών και μεσαίων χοληφόρων σωληναρίων, που χαρακτηρίζεται ορολογικά από την παρουσία αυτοαντισωμάτων αντι-αντιγόνου M2. Τα αντισώματα αντι-M2 ανήκουν στα αντι-μιτοχονδριακά αντισώματα (AMA) και αντιδρούν με ετερογενή τρόπο εναντίον των συναφών πρωτεϊνών του συμπλόκου αλφα-κετο οξυ-αφυδρογονάση, που βρίσκεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Το μεγαλύτερο μέρος των επίτοπων που συνδέονται με το αντίσωμα, βρίσκονται στην υπο-μονάδα E2 και στην πρωτεΐνη X του συμπλόκου πυροσταφυλο-αφυδρογονάση (PDC). Επιπλέον, τα αντισώματα αντι-AMA-M2-G στο PDC αναγνωρίζουν την υπο-ομάδα E1 (άλφα και βήτα) και την υπο-ομάδα E2 άλλων πολυενζυμικών συμπλόκων, όπως για παράδειγμα το σύμπλοκο 2-οξο-γλουταμικό-αφυδρογονάση (OGDC) και το σύμπλοκο *branched chain* (διακλαδισμένης αλυσίδας) 2-οξο οξο-αφυδρογονάση (BCOADC). Ο προσδιορισμός των αυτοαντισωμάτων αντι-AMA-M2-G παίζει πρωταρχικό ρόλο στη διάγνωση της πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus AMA-M2 είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG αντί-M2, 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 ραφανιδίων.

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 για την ανίχνευση 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 συμβουλευέστε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγραφεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να έχει στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για

να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

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

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86084).

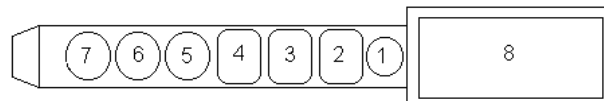
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86084/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86084).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86084/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαίσθητοποιημένη με ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη M2

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαίσθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό αλατούχο διάλυμα που περιέχει Proclin (0,1%)

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντί-IgG μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση.

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

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός που περιέχει αντισώματα IgG αντι-AMA M2 και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός που περιέχει αντισώματα IgG αντι-AMA M2 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. Ανοίξετε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Βάλτε στην κυψελίδα αρ. 1 του κάθε σετ, 50 µl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.

4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Οδηγιών της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

Τηλ.: 0039 0577 319554

Φαξ: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18 AU/ml

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12 AU/ml

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

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 3.0-300.0 AU/ml

Για δείγματα >300.0 AU/ml επαναλάβετε το τεστ αραιώνοντας πρώτα το δείγμα σε Negative Control/Sample Diluent (Αρνητικό Έλεγχο/Δείγμα Διαλύτη) (PF83607- δεν παρέχεται με το kit).

13. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 2 δείγματα (1 Αρνητικά, 1 Θετικά) στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 IU/ml)

IO-09/219-C IFU 86084 – 86084/12 – Ed. 09.04.2021

Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
 Τριγλυκερίδια (10 mg/dl - 250 mg/dl)
 Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

14. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 27 δείγματα, θετικά στα ANA, ASCA, HCV. Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 385 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου. Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Σύνολο	67	318	385

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):
 98.5% CI_{95%}: 92.0-99.7

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):
 99.7% CI_{95%}: 98.2-99.9

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής 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	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή AU/ml	CV%	Μέση Τιμή AU/ml	CV%
1	3.8	6.3	3.6	7.2
2	33.9	5.2	35.9	14.7
3	70.6	7.8	65.0	14.8

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.

3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283–307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei laghi 39
 53035 Monteriggioni (Siena)
 Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS AMA-M2

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-M2

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-M2 en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La cirrosis biliar primaria (CBP) es una dolencia inflamatoria crónica de los pequeños y medianos conductos biliares y caracterizada serológicamente por la presencia de autoanticuerpos M2 circulantes. Los autoanticuerpos anti-M2 pertenecen al grupo de los anticuerpos anti-mitocondriales (AMA). La reacción heterogéneamente específica de los AMA del subtipo M2 está dirigida contra tres proteínas relacionadas del complejo alfa-ceto ácido deshidrogenasa, que está localizado en la membrana mitocondrial interna. El epitopo principal reconocido está localizado en la subunidad E2 y la proteína X del complejo piruvato deshidrogenasa (PDC). Adicionalmente, los autoanticuerpos AMA-M2-G reconocen las E1 alfa y E1 beta subunidades del mismo complejo y la subunidad E2 de otros diversos complejos inmunoenzimáticos, como el complejo 2-oxo-glutarato deshidrogenasa (OGDC) y la cadena bifurcada del complejo 2-oxo-ácido deshidrogenasa (BCOADC).

La determinación de los AMA-M2-G es una potente herramienta para el diagnóstico de la CBP.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus AMA-M2 está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-M2, 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 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.**
- Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
- Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
- Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
- Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
- No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
- Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
- Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
- No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
- El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
- No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
- 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 86084).

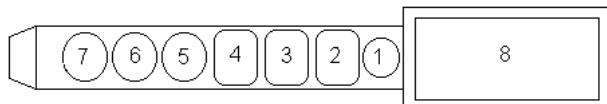
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86084/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86084).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86084/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con proteína M2 recombinante

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución proteica salina que contiene Proclin (0,1 %)

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgG humanos marcados con peroxidasa.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-AMA M2 y conservante. Líquido, listo para su uso

CONTROL + CONTROL POSITIVO

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-AMA M2 y conservante. Líquido, listo para su uso

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

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

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

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 18 AU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0 – 300.0 AU/ml

Para muestras > 300.0 AU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/ Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

2 muestras (1 Negativas, 1 Positivas) fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

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

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

14. REACCIONES CRUZADAS

27 muestras, positivas en ANA, ASCA, y HCV fueron testadas. No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 385 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
Diesse	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Total	67	318	385

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):
98.5% CI_{95%}: 92.0-99.7

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):
99.7% CI_{95%}: 98.2-99.9

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

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media AU/ml	CV%	Media AU/ml	CV%
1	3.8	6.3	3.6	7.2
2	33.9	5.2	35.9	14.7
3	70.6	7.8	65.0	14.8

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.
3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283–307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS AMA-M2

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgG anti-M2

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-M2 dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

La cirrhose biliaire primaire est une maladie inflammatoire chronique des canaux biliaires petits et moyens, caractérisée par la présence d'auto-anticorps anti-antigène M2 dans le sérum. Les anticorps anti-M2 font partie des anticorps anti-mitochondriaux (AMA) et réagissent de façon hétérogène contre trois protéines semblables du complexe alpha-kéto acido-déshydrogénase, localisées sur la membrane mitochondriale interne. La majeure partie des épitopes qui se lient à l'anticorps se trouvent dans la sous-unité E2 et sur la protéine X du complexe pyruvate-déshydrogénase (PDC). De plus, les anticorps anti-AMA-M2-G sur le PDC reconnaissent la sous-unité E1 (alpha et beta) et la sous-unité E2 d'autres complexes multienzymatiques, comme par exemple le complexe 2-oxo-glutarato-déshydrogénase (OGDC) et le complexe *branched chain* 2-oxo acido-déshydrogénase (BCOADC).

La détermination des auto-anticorps anti-AMA-M2-G est d'une importance fondamentale pour le diagnostic de la cirrhose biliaire primaire.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus AMA-M2 est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-M2, 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 incubé 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 kit contient des matériaux d'origine humaine qui ont été testés et trouvés négatifs pour les anticorps HBsAg et anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-HCV. 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 86084).

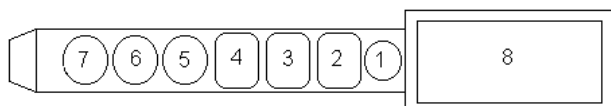
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86084/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86084).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86084/12).

Description:



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

Position 7: Vide

Position 6: PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé à la protéine M2 recombinante

Position 5: PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4: SUBSTRAT TMB

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

Position 3: DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu: solution saline protéique contenant du Proclin (0,1%)

Position 2 : CONJUGUE

Contenu: anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués avec la peroxydase.

Position 1 : PUIITS VIDE

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

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-AMA M2 et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

Contenu : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-AMA M2 et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

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

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

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

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

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

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

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

8. PROCÉDURE

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

9. VALIDATION DU TEST

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

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

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

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

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

POSITIF quand le résultat est > 18 AU/ml

NÉGATIF quand le résultat est < 12 AU/ml

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

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

11. LIMITES DU TEST

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

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

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 3.0 – 300.0 AU/ml

Pour les échantillons > 300.0 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

2 échantillons ont été testés (1 négatifs, 1 positifs), auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Facteur rhumatoïde (44-220 IU/ml)

Bilirubine (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglycérides (10 mg/dl - 250 mg/dl)

Hémoglobine (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

14. RÉACTIONS CROISÉES

27 échantillons positifs aux ANA, ASCA, et HCV ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 385 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	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Total	67	318	385

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :
98.5% CI_{95%}: 92.0-99.7

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :
99.7% CI_{95%}: 98.2-99.9

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	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne AU/ml	CV %	Moyenne AU/ml	CV %
1	3.8	6.3	3.6	7.2
2	33.9	5.2	35.9	14.7
3	70.6	7.8	65.0	14.8

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.
3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283–307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italie





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS AMA-M2

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-M2

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos de classe IgG anti-M2 no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A cirrose biliar primária é uma doença inflamatória crônica dos canais biliares pequenos e médios, caracterizada serologicamente pela presença de auto-anticorpos anti-antígeno M2. Os anticorpos anti-M2 fazem parte dos anticorpos anti-mitochondriais (AMA) e reagem de modo heterogêneo contra três proteínas afins do complexo alfa-keto ácido-desidrogenase, localizado na membrana mitocondrial interna. A maior parte dos epitopes que se ligam ao anticorpo encontram-se na subunidade E2 e na proteína X do complexo piruvato-desidrogenase (PDC). Para além disso, os anticorpos anti-AMA-M2-G no PDC reconhecem a subunidade E1 (alfa e beta) e a subunidade E2 de outros complexos multienzimáticos, como por exemplo o complexo 2-oxi-glutarato-desidrogenase (OGDC) e o complexo *branched chain* 2-oxiácido-desidrogenase (BCOADC).

A determinação dos auto-anticorpos anti-AMA-M2-G é de importância fundamental para o diagnóstico da cirrose biliar primária.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus AMA-M2 está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG anti-M2, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

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

Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase. A cor que se forma é proporcional à

concentração dos anticorpos específicos presentes no soro analisado.

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

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

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma proteção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afetada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado. Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86084).

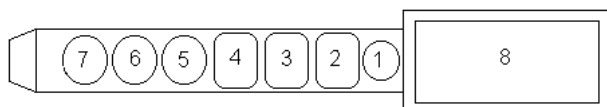
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86084/12).

DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86084).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86084/12).

Descrição:



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

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com proteína recombinante M2

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina com Proclin (0,1%)

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgG humanas marcadas com peroxidase.

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

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

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

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

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS:

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

Sensibilizado com proteína recombinante M2	Sensibilizado com proteína recombinante M2
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 AU/ml
NEGATIVO quando o resultado for < 12 AU/ml
INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 12 e 18 AU/ml

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0 – 300.0 AU/ml
Para amostras > 300.0 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 2 amostras (1 Negativos, 1 Positivos) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

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

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

14. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 27 amostras, positivas em ANA, ASCA, e HCV. Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 385 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	66	1	67
	-	1	317	318
	Total	67	318	385

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):
98.5% CI_{95%}: 92.0-99.7

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):
99.7% CI_{95%}: 98.2-99.9

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

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média AU/ml	CV%	Média AU/ml	CV%
1	3.6	7.8	1	3.6
2	30.3	10.4	2	30.3
3	63.9	9.0	3	63.9

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média AU/ml	CV%	Média AU/ml	CV%
1	3.8	6.3	3.6	7.2
2	33.9	5.2	35.9	14.7
3	70.6	7.8	65.0	14.8

17. BIBLIOGRAFIA

1. Berg PA and Klein R (1989) Seminars in liver disease 9 : 103-116.
2. Berg PA et al (1982) Lancet 2 : 1423-1426.
3. Manns M et al (1989) In: Hrepatologie und Praxis.Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 350-358.
4. Coppel RL and Gershwin ME (1995) Immunol Rev 44: 17-49.
5. Hohenester, S., Oude-Elferink, R.P.J., Beuers, U. Primary biliary cirrhosis. Semin Immunopathol 31, 283-307 2009



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy



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