

CHORUS

Beta 2-Glycoprotein-M



DIESSE
DIESSE

REF 86052

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

REF 86052/12





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgM anti-β2-Glicoproteina I

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgM anti-β2-Glicoproteina I nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Gli anticorpi anti-β2-glicoproteina I appartengono al gruppo degli anticorpi anti-fosfolipidi diretti prevalentemente contro complessi di fosfolipidi caricati negativamente (eg. Cardiolipina) e proteine plasmatiche come l'anti-β2-glicoproteina I, la protrombina, la proteina C o proteina S. E' stata osservata anche una specificità degli anticorpi diretti contro l'anti-β2-glicoproteina I isolata, pertanto sono attualmente in corso discussioni sul ruolo dell'anti-β2-glicoproteina I anche come autoantigene indipendente.

L'anti-β2-glicoproteina I (apolipoproteina H) è un β2-globulina da 50 kDa, associata in vivo con lipoproteine, trombociti e fosfolipidi, che sembra inibire la coagulazione intrinseca, l'attività di protrombinasi e l'aggregazione trombocitica dipendente da ADP.

Gli anticorpi anti-fosfolipidi vengono individuati frequentemente nel Lupus eritematoso sistemico (LES) e in malattie affini. Sono caratteristici di una sindrome antifosfolipidica (APS) secondaria. L'individuazione di questi autoanticorpi in pazienti senza malattie autoimmuni è caratteristica dell'APS primaria.

Numerosi studi hanno potuto dimostrare una correlazione fra la determinazione di questi autoanticorpi e la frequente comparsa di trombosi, trombocitopenie e aborti abituali (come conseguenza di aborti placentari). Fino ad ora, tuttavia, non è stato ancora perfettamente chiarito il ruolo svolto dagli anticorpi anti-fosfolipidi nella comparsa di trombosi.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Beta 2-Glycoprotein-M è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-β2-Glicoproteina I, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

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

substrato per la perossidasi. Il colore che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi

che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.

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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86052)

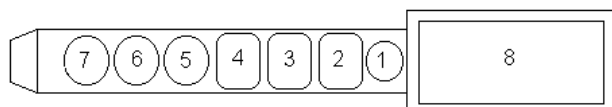
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86052/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86052)

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86052/12)

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con β 2-Glicoproteina I

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H_2O_2 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%)

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella

busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.175 ml**

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti- β 2-Glicoproteina I e conservante. Liquido, pronto all'uso.

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

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti- β 2-Glicoproteina I 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 μ l.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 18.0

NEGATIVO: quando il risultato è < 12.0

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 12.0 e 18.0

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0-300.0 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 6 campioni (3 Negativi e 3 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 – 220 IU/ml)
 Bilirubina (4.5 mg/dl – 18 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 150 mg/dl)
 Emoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

14. CROSS-REATTIVI

13 campioni positivi a Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM e Tuberculosis IgM sono stati testati. Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 180 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio. Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Totale	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):
 93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):
 100% CI_{95%}: 97.1. – 100

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.95.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta	
	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Campione	Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. BIBLIOGRAFIA

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.

4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

For the semiquantitative determination of anti- β 2-Glycoprotein I IgM antibodies

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgM class antibodies against β 2-Glycoprotein I in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Antibodies against β 2-glycoprotein I belong to the group of anti-phospholipid antibodies mainly targeted against complexes composed of negatively charged phospholipids (e.g. cardiolipin) and plasma proteins like β 2-glycoprotein I, prothrombin, protein C or protein S.

Reactivity against isolated β 2-glycoprotein I is found, too. Thus β 2-glycoprotein I is discussed to be an autoantigen on its own. β 2-glycoprotein I, also called apolipoprotein H, is a 50 kDa beta-2 globulin which is associated in vivo with lipoprotein, platelets and phospholipids and which seems to inhibit the intrinsic coagulation pathway, the prothrombinase activity and the ADP-dependent platelet aggregation. Anti-phospholipid antibodies are frequently found in sera of patients with systemic lupus erythematosus and related diseases and are typical of the secondary development of an antiphospholipid syndrome (APS). Anti-phospholipid antibodies in patients with no other autoimmune diseases, on the other hand, characterize a primary APS.

Many studies have shown a correlation between these autoantibodies and an enhanced incidence of thrombosis, thrombocytopenia and habitual abortions (as a consequence of placental infarction). The exact mechanism by which pathogenic anti-phospholipid antibodies induce thrombosis has not yet been revealed.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Beta 2-Glycoprotein-M device is ready to use for the detection of IgM antibodies against β 2-Glycoprotein I, in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

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

The unbound conjugate is eliminated and the peroxidase substrate is added. The colour which develops is proportional to

the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

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

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged. Do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use and the Instrument Operating Manual must be carefully followed.

5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86052).

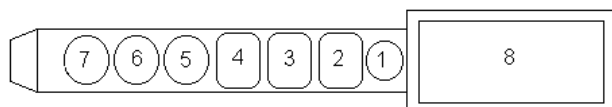
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86052/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86052).

2 packages each containing 6 devices (REF 86052/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with β 2-Glycoprotein I

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 proteic solution with Proclin (0.1%)

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which undiluted serum must be added

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing anti- β 2-Glycoprotein I IgM antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing anti- β 2-Glycoprotein I IgM antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF) 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF) 83609
- SANITIZING SOLUTION (REF) 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF) 83607
- Chorus/Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 μ l 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 μ l of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 18.0

NEGATIVE: when the result is < 12.0

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 12.0 and 18.0

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

11. LIMITATIONS

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

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0-300.0 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

6 samples (3 Negative and 3 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid factor (44 - 220 IU/ml)

Bilirubin (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Triglycerides (10 mg/dl - 150 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

13 samples, positive to Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM and Tuberculosis IgM were tested.

No significant cross-reactions were found.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 180 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

Reference		
+	-	Tot.

Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Tot.	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI_{95%}: 97.1 – 100

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.95.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run	
	Mean (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Sample	Between run	
	Mean (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. REFERENCES

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

Pro semikvantitativní stanovení IgM anti-β2-Glykoproteinů I protilátek

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgM protilátek proti β2-Glykoproteinu I v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Protílátky proti β2-glykoproteinu I patří do skupiny antifosfolipidových protilátek, které jsou primárně namířeny proti komplexům skládajícím se z negativně nabitých fosfolipidů (např. kardiolipin) a proti plazmovým proteinům, jako jsou β2-glykoprotein I, protrombin, protein C a protein S.

Objevuje se také reaktivita proti izolovanému β2-glykoproteinu I. Proto také o β2-glykoprotein I mluvíme jako o samostatném autoantigenu. β2-glykoprotein I, nazývaný též apolipoprotein H, je 50kDa beta-2 globulin asociovaný *in vivo* s lipoproteinem, krevními destičkami a fosfolipidy, který zdá se inhibuje koagulační kaskádu, aktivitu protrombinázy a shlukování ADP podmíněných krevních destiček. Antifosfolipidové protílátky se často vyskytují v sérech pacientů postižených systémovým lupus erythematosus a podobnými onemocněními a jsou typické pro sekundární vývoj antifosfolipidového syndromu (APS). U pacientů, kteří netrpí žádným jiným autoimunitním onemocněním, charakterizují antifosfolipidové protílátky naopak primární APS.

Mnoho studií ukazuje na korelaci mezi těmito autoprotílátkami a zvýšeným výskytem trombózy, trombocytopenie a opakovaného potratu (následkem placentálního infarktu). Přesný mechanismus, kterým patogenní antifosfolipidové protílátky navozují trombózu, nebyl ještě odhalen.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus Beta 2-Glycoprotein-M je připraven k použití pro zkoušku na IgM protílátky proti β2-Glykoproteinu I, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunisorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

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

Konjugát, který nereagoval, je eliminován a přidá se peroxidázový substrát. Zabarvení, které vznikne, je přímo

úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny jako Arbitrární jednotky (AU/ml).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlité potenciálně infekční materiály 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 nevrhujte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

1. **Nástroje vykazující modré zbarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. 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.

4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze zařízení).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
8. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlormanovým výparům.
10. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
12. **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 86052).

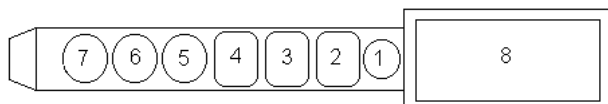
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86052/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86052).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86052/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená β 2-glykoproteinem I.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H_2O_2 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: solný bílkovinný roztok s Proclinem (0.1%)

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neřaděné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR **1 x 0.175 ml**

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgM proti β 2-Glykoproteinu I a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA **1 x 0.425 ml**

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgM proti β 2-Glykoproteinu I a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF) 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF) 83609
- SANITIZING SOLUTION (REF) 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF) 83607
- Zařízení Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 μ l 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

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

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 18.0

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 12.0

SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 12.0 a 18.0

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný/ jednoznačný, 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 nařaděný v ředidle pro negativní kontrolní vzorek (PF83607 – se v rámci soupravy nedodává).

13. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 6 vzorků (3 negativní a 3 pozitivní) obsahujících následující rušivé substance.

Rheumatoidní faktor (44-220 IU/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)
Triglyceridy (10 mg/dl - 150 mg/dl)
Hemoglobin (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

14. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 13 vzorky pozitivní na Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM a Tuberculosis IgM.

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 180 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Celkem	49	131	180

Procento pozitivní shody (~diagnostická citlivost):

93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Procento negativní shody (~diagnostická specifická): 100%

CI_{95%}: 97.1. – 100

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 0.95.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření	
	Průměr (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Vzorek	Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (AU/ml)	CV%	Průměr (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgM αντί-β2-Γλυκοπρωτεΐνης I

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgM αντί-β2-Γλυκοπρωτεΐνης I στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αντισώματα αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνης I ανήκουν στην ομάδα των αντισωμάτων αντι-φωσφολιπιδίων που επιτίθενται κυρίως εναντίον συμπλόκων από φωσφολιπίδια με αρνητικό φορτίο (π.χ. Καρδιολιπίνη) και πρωτεΐνες πλάσματος, όπως η αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνη I, η προθρομβίνη, η πρωτεΐνη C ή η πρωτεΐνη S. Παρατηρήθηκε επίσης και μία ειδικότητα των αντισωμάτων που κατευθύνονται εναντίον της απομονωμένης αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνης I. Γι' αυτό τον λόγο βρίσκονται σε εξέλιξη συζητήσεις ως προς τον ρόλο της αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνης I και ως ανεξάρτητο αυτοαντιγόνο.

Η αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνη I (απολιποπρωτεΐνη H) είναι μία β2-σφαιρίνη 50 kDa, συνδεδεμένη *in vivo* με λιποπρωτεΐνες, θρομβοκύτταρα και φωσφολιπίδια, και η οποία δείχνει ό,τι αναστέλλει τον ενδογενή μηχανισμό πήξης του αίματος, την δραστηριότητα της προθρομβινάσης και την συσσωμάτωση των θρομβοκυττάρων που εξαρτάται από την ADP.

Τα αντισώματα αντι-φωσφολιπιδίων ανιχνεύονται συχνά στον Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) και σε άλλα συναφή νοσήματα. Χαρακτηρίζουν το δευτεροπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο. Ο εντοπισμός αυτών των αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς που δεν πάσχουν από αυτοάνοσα νοσήματα, είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της πρωτοπαθούς APS.

Πολλές μελέτες απέδειξαν την ύπαρξη μίας συσχέτισης μεταξύ του προσδιορισμού αυτών των αυτοαντισωμάτων και τη συχνή εμφάνιση της θρόμβωσης, της θρομβοκυτταροπενίας και της συνήθους αποβολής ως αποτέλεσμα έμφραξης του πλακούντα Παρ' όλα αυτά μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχθεί τελείως ο ρόλος των αντισωμάτων αντι-φωσφολιπιδίων στην εμφάνιση της θρόμβωσης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus β2-Glycoprotein-M είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM αντί-β2-Γλυκοπρωτεΐνης I, στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Το αντιγόνο στερεώνεται στη στερεά

φάση. Οι συγκεκριμένες ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από ανθρώπινα αντισώματα αντί-ανοσοσφαιρίνης συζευγμένης με υπεροξειδάση ραφανίδων.

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

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

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

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

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

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

Αναλυτικές οδηγίες

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

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

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86052).

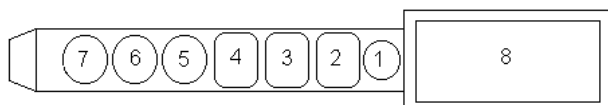
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86052/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86052).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86052/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με β2-Γλυκοπρωτεΐνη I.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΤΜΒ

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: ρυθμιστικό πρωτεϊνικό διάλυμα που εμπεριέχει Proclin (0.1%)

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

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

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ **1 x 0.175 ml**

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρώπινου ορού που περιέχει αντισώματα IgM αντί-β2-Γλυκοπρωτεΐνης I και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ **1 x 0.425 ml**

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρώπινου ορού που περιέχει αντισώματα IgM αντί-β2-Γλυκοπρωτεΐνης I και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

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

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

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

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

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Arbitrary Units (AU/ml) που υπολογίζονται βάσει ενός

γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 18.0

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 12.0

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 12.0 και 18.0

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβоло/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 αραίωνοντας πρώτα το δείγμα σε Negative Control/Sample Diluent (Αρνητικό Έλεγχο/Δείγμα Διαλύτη) (PF83607- δεν παρέχεται με το κιτ).

13. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 6 δείγματα (3 Αρνητικά και 3 Θετικά) στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας (44 - 220 IU/ml)

Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl - 150 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 13 δείγματα, θετικά σε/στα Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM και Tuberculosis IgM.

Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 180 δείγματα με το κιτ Diesse και με ένα άλλο κιτ του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Σύνολο	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):
100% CI_{95%}: 97.1 – 100

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0.95.

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	
	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Δείγμα	ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ	
	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Δείγμα	ΜΕΤΑΞΥ ΠΑΡΤΙΔΩΝ		ΜΕΤΑΞΥ ΣΥΣΚΕΥΩΝ	
	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgM anti-β2-Glicoproteína I

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgM anti-β2-Glicoproteína I en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos anti-β2-glicoproteína I pertenecen al grupo de los anticuerpos anti - fosfolipídicos que se dirigen principalmente contra complejos compuestos de fosfolípidos cargados negativamente (p. e. cardiolipina) y proteínas plasmáticas como anti-β2-glicoproteína I, protrombina, proteína C o proteína S. Se ha visto también reactividad contra la β2-glicoproteína I aislada. De ahí que se hable acerca de que la β2-glicoproteína I sea un autoantígeno de sí misma. La β2-glicoproteína I, también llamada apolipoproteína H, es una β2 globulina de 50 kDa que se asocia in vivo con lipoproteína, plaquetas y fosfolípidos y que parece inhibir la vía de la coagulación intrínseca, la actividad de la protrombinasa y la agregación de las plaquetas ADP-dependiente. Los anticuerpos anti-fosfolipídicos se encuentran frecuentemente en sueros de pacientes con lupus eritematoso sistémico y enfermedades relacionadas y son típicos en el desarrollo secundario de un síndrome anti-fosfolipídico (SAF). Por otro lado, los anticuerpos anti-fosfolipídicos en pacientes con ninguna otra enfermedad autoinmune caracterizan a un SAF primario. Muchos estudios muestran una correlación entre estos anticuerpos y una aumentada incidencia de trombosis, trombocitopenia y abortos habituales (como consecuencia de infarto de placenta). El mecanismo exacto de la inducción de trombosis por parte de los anticuerpos anti-fosfolipídicos patogénicos no ha sido aún revelado.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Beta 2-Glycoprotein-M está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgM anti-β2-Glicoproteína I, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

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

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado,

compuesto de anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas conjugadas con peroxidasa de rábano.

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

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

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

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86052).

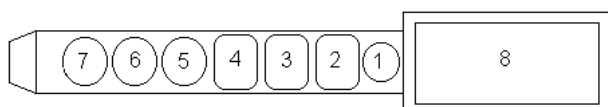
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86052/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86052).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86052/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con β 2-Glicoproteína I

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 con Proclin (0.1%)

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 ml**
Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM anti- β 2-Glicoproteína I y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 0.425 ml**
Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM anti- β 2-Glicoproteína I 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 μ l
- 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 > 18.0
 NEGATIVO cuando el resultado es < 12.0
 DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 12.0 y 18.0

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

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0-300.0 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

6 muestras (3 Negativas y 3 Positivas) fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (44 – 220 IU/ml)
 Bilirrubina (4.5 mg/dl – 18 mg/dl)
 Triglicéridos (10 mg/dl – 150 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

13 muestras, positivas en Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM y Tuberculosis IgM fueron testadas. No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 180 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Total	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):
 93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):
 100% CI_{95%}: 97.1. – 100

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.95.

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO	
	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Muestra	ENTRE ENSAYOS	
	Media (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgM anti-β2-Glycoprotéine I

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgM anti-β2-Glycoprotéine I dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Les anticorps anti-β2-glycoprotéine I appartiennent au groupe des anticorps anti-phospholipides dirigés de façon prévalente contre les complexes de phospholipides chargés négativement (exemple, Cardiolipine) et les protéines plasmatiques comme l'anti-β2-glycoprotéine I, la prothrombine, la protéine C ou protéine. Une spécificité des anticorps dirigés contre l'anti-β2-glycoprotéine I isolée a été observée, c'est pour cela que des discussions sur le rôle de l'anti-β2-glycoprotéine I sont actuellement en cours également comme antigène indépendant.

L'anti-β2-glycoprotéine I (apolipoprotéine H) est une β2-globuline de 50 kDa, associée in vivo avec des lipoprotéines, thrombocytes et des phospholipides, qui semble inhiber la coagulation intrinsèque, l'activité de prothrombinase et l'agrégation thrombocytaire dépendant de ADP.

Les anticorps anti-phospholipides sont individualisés fréquemment dans le Lupus érythémateux systémique (SLE) et dans les maladies associées. Ils sont caractéristiques d'un syndrome anti-phospholipidique (APS) secondaire, L'individualisation de ces auto-anticorps chez les patients sans maladies auto-immunitaires est caractéristique de l'APS primaire.

De nombreuses études ont démontré une corrélation entre ces auto-anticorps et une plus grande incidence de thromboses, thrombocytopenie et avortements fréquents (comme conséquence d'un infarctus placentaire). Le rôle joué par les anticorps anti-phospholipides dans l'apparition de la thrombose n'a pas encore été complètement éclairci.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus Beta 2-Glycoprotéine-M est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgM anti-β2-Glycoprotéine I, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

En le faisant incuber avec du sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après

lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines conjuguées avec du peroxyde de raifort.

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

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

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

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

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour la recherche de HBsAg que pour la recherche des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostique 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

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
4. 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).
5. 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.
6. 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.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
3. 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.
4. 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.
5. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
9. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
10. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum pas totalement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **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 86052).

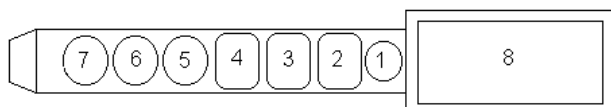
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86052/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86052).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86052/12).

Description:



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

Position 7: Vide

Position 6: PUIITS DE LA MICROPLAQUE
Sensibilisé avec β 2-Glycoprotéine I

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-IgM humaines marqués avec la peroxydase, dans une solution tamponnée au phosphate contenant du phénol à 0.05 % et du Bronidox à 0.02 %.

Position 1 : PUIITS VIDE

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

Usage: équilibrer un sachet à température ambiante,

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR

1 x 0.175 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM anti- β 2-Glycoprotéine I et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.425 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM anti- β 2-Glycoprotéine I et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 μ l
- 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 décongélation.

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

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

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

8. PROCÉDURE

- 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.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
- 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.
- Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

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

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

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

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

POSITIF quand le résultat est > 18.0

NÉGATIF quand le résultat est < 12.0

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 12.0 et 18.0

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

11. LIMITES DU TEST

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

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

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 3.0-300.0 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

6 échantillons ont été testés (3 négatifs et 3 positifs), auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Facteur rhumatoïde (44 - 220 IU/ml)
 Bilirubine (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)
 Triglycérides (10 mg/dl - 150 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

13 échantillons positifs aux Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM et Tuberculosis IgM ont été testés. Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 180 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	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Total	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique):

93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique):

100% CI_{95%}: 97.1. – 100

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.95.

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE	
	Moyenne (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Échantillon	INTER-SÉANCES	
	Moyenne (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (AU/ml)	CV%	Moyenne (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Beta 2-Glycoprotein-M

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgM anti-β2-Glicoproteína I

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos de classe IgM anti-β2-Glicoproteína I no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

Os anticorpos anti-β2-glicoproteína I pertencem ao grupo dos anticorpos anti-fosfolípidos dirigidos prevalentemente contra complexos de fosfolípidos carregados negativamente (por ex. Cardiolipina) e proteínas plasmáticas tais como a anti-β2-glicoproteína I, a protrombina, a proteína C ou a proteína S. Também observada uma especificidade dos anticorpos dirigidos contra a anti-β2-glicoproteína I isolada, portanto actualmente estão em curso discussões sobre o papel da anti-β2-glicoproteína I também como auto-antigénio independente. A anti-β2-glicoproteína I (apolipoproteína H) é uma β2-globulina de 50 kDa, associada *in vivo* com lipoproteínas, trombocitos e fosfolípidos, que parecem inibir a coagulação intrínseca, a actividade da protrombinase e a agregação trombocítica dependente da ADP.

Os anticorpos anti-fosfolípidos são registados frequentemente no Lupus eritematoso sistémico (LES) e em doenças afins. São característicos de uma síndrome anti-fosfolípídica (APS) secundária. O registo destes auto-anticorpos em pacientes sem doenças autoimunes é característica da APS primária.

Numerosos estudos puderam demonstrar uma correlação entre a determinação destes auto-anticorpos e o aparecimento frequente de trombose, trombocitopenia e abortos habituais (como consequência de abortos placentários). Todavia, até agora, ainda não foi perfeitamente esclarecido o papel desenvolvido pelos anticorpos anti-fosfolípidos no aparecimento de trombose.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Beta 2-Glycoprotein-M está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgM anti-β2-Glicoproteína I, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

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

imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase de rábano.

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

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

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

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

Advertências analíticas

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

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, lipémicas, 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 86052).

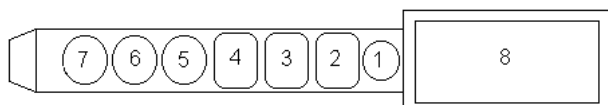
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86052/12).

DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86052).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86052/12).

Descrição:



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

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com β 2-Glicoproteína I

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-IgM humanas marcadas com peroxidase, em solução tampão de fosfato, contendo fenol 0.05% e Bronidox 0.02%

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 mL**
 Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti- β 2-glicoproteína I e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO **1 x 0.425 ml**
 Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti- β 2-glicoproteína I e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem..

A inativação ao calor pode levar a resultados errados.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

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

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 18.0

NEGATIVO quando o resultado for < 12.0

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 12.0 e 18.0

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0-300.0 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 6 amostras (3 Negativos e 3 Positivos) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44 - 220 IU/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl - 150 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 13 amostras, positivas em Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM y Tuberculosis IgM. Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 180 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Total	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

100% CI_{95%}: 97.1. – 100

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.95.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio	
	Média (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Amostra	Entre Ensaios	
	Média (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. BIBLIOGRAFIA

1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a

single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.

2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.
3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrlé R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS
Beta 2-Glycoprotein-M

Pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor IgM anti-β2-glicoproteina I

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor de clasa IgM anti-β2-glicoproteina I in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Anticorii impotriva β2-glicoproteina I apartin grupului de anticorpi anti-fosfolipide in principal indreptati impotriva complexelor compuse din fosfolipide incarcate negativ (ex. cardiolipin) si proteinele plasmei cum ar fi β2-glicoprotein I, protrombina, proteina C sau proteina S.

Reactivitatea impotriva β2-glicoproteinei I izolate, este de asemenea existenta, Astfel β2-glicoproteina I se discuta a fi un autoantigen de sine statator. β2-glicoproteina I, numita si apolipoproteina H, este o globulina de 50 kDa beta-2 asociata in vivo cu lipoproteina, plachete si fosfolipidele si care par sa inhibe calea intrinseca de coagulare, activitate protrombinazica si agregare plachetara ADP-dependenta. Anticorii anti-fosfolipidici se gasesc frecvent in serurile pacientilor cu lupus eritematos sistemic si boli asemnatoare si este tipic pentru dezvoltare secundara a sindromului antifosfolipidic (APS). Anticorii anti-fosfolipidici la pacientii cu nici o boala autoimuna, pe de alta parte, caracterizeaza APS primar.

Multe studii au aratat corelarea dintre acesti anticorpi si incidenta trombozei, trombocitopeniei si a avorturilor obisnute (ca o consecinta a infarctului placentar). Nu s-a stabilit inca mecanismul exact prin care anticorii patogeni anti-fosfolipidici induc tromboza.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Beta 2-Glycoprotein-M este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgM impotriva β2-Glicoproteina I, pe instrumentele Chorus/ Chorus TRIO.

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

Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubarea cu serul uman diluat. Dupa spalările efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi imunoglobuline anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean. Conjugatul care nu a participat la reactie este eliminat si este adaugat substratul de peroxidaza. Culoarea care se dezvolta este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

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

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

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

7. Nu pipetati cu gura.
8. In timpul manevrării specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
9. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/ Chorus TRIO.
10. Consultati materialul corespunzator - Fisa Tehnica de Securitate (disponibila la cerere) pentru toate informatiile legate de securitatea reactivilor continuti de kit.
11. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
12. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusele, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

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

13. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
14. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
1. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat. Nu utilizati dispozitive

- carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
- Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
 - Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
 - Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
 - Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
 - Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
 - In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
 - Folosirea probelor accentuat hemolizate, lipemice, icterice, din seruri necoagulate complet sau din probe care prezinta contaminare microbiana, pot constitui toate surse de eroare.
 - Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
 - Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Tampon de Spalare Autoimunitate (Ref. 86004).**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 86052).

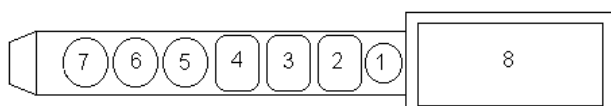
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 86052/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86052).

2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86052/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu β 2-glycoprotein I

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL si H_2O_2 0.01% stabilizat in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: solutie proteica salina cu Proclin (0.1%)

Pozitia 2: CONJUGAT 0.3 ml

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

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica

gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Continut: Ser uman diluat continand IgM anticorpi anti- β 2-glicoproteina I si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 0.425 ml

Continut: Ser uman diluat continand IgM anticorpi anti- β 2-glicoproteina I si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

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

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din ser recoltat normal din vena si manevrata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator.

Posibile consecinte aparute in urma folosirii altor lichide biologice, nu sunt cunoscute.

Serul proaspat poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C si poate fi decongelat de maxim 3 ori.

Nu tineti probele in frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare.

Neutralizarea la caldura poate duce la rezultate eronate. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA ANALIZEI

- Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de

dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.

2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

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

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in Unitati Arbitrare (AU/ml) calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

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

POZITIV: cand rezultatul este > 18.0

NEGATIV: cand rezultatul este < 12.0

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 12.0 si 18.0

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

11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient.

Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare: 3.0-300.0 AU/ml.

Pentru probele cu un titru > 300.0 AU/ml, repetati testul pre-diluand proba cu Negative Control Sample Diluent (PF83607 – care nu este furnizat impreuna cu kitul).

13. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 6 probe (3 negative si 3 pozitive) continand urmatoarele substante interferente:

Factor Reumatoid (44-220 IU/ml)
Bilirubina (4.5 mg/dl - 18 mg/dl)

Trigliceride (10 mg/dl - 150 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

14. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 13 probe pozitive la: Treponema IgM, Varicella IgM, Herpes simplex IgM si Tuberculosis IgM.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

15. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 180 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	46	0	46
	-	3	131	134
	Total	49	131	180

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului):

93.9% CI_{95%}: 83.4 – 97.8

Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului):

100% CI_{95%}: 97.1. – 100

Acordul dintre cele doua metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.95.

16. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare	
	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	4.8
2	56.9	2.9
3	15.7	7.4

Proba	Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (AU/ml)	CV%
1	57.4	8.7
2	54.2	6.7
3	15.0	8.3

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	65.9	12.1	58.4	7.7
2	57.9	11.2	54.6	6.6
3	14.5	4.8	15.7	8.0

17. BIBLIOGRAFIE













1. Y. SHENG, J. G. HANLY, S. W. REDDEL, S. KOUTS, J. GUERIN, T. KOIKE, K. ICHIKAWA, A. STURGESS & S. A. KRILIS. Detection of 'antiphospholipid' antibodies: a single chromogenic assay of thrombin generation sensitively detects lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, plus antibodies binding b2-glycoprotein I and prothrombin. Clin Exp Immunol 2001; 124:502±508.
2. R. R. FORASTIERO, M. E. MARTINUZZO & L. O. CARRERAS. Binding properties of antibodies to prothrombin and b2-glycoprotein I (b2-GPI) assayed by ELISA and dot blot. Clin Exp Immunol 1999; 118:480±486.

3. Schousboe I (1985) Blood 66: 1086-1091.
4. Nimpf J et al. (1986) Biochim. Biophys. Acta 884: 142-149.
5. Nimpf J et al. (1987) Artherosclerosis 6: 109-114.
6. Harris EN et al (1983) Lancet Nov. 26 : 1211-1214.
7. Galli M et al. (1990) Lancet 335 : 1544-1547. Wöhrle R et al : 82000) J. Autoimmunity 15 : A60.



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 jusque 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 Fabricante	FR Fabricant GR Κατασκευαστής PT Fabricante
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR Contenu suffisant pour "n" tests GR Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN Temperature limitation ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura	FR Limites de température GR Περιορισμοί θερμοκρασίας PT Limites de temperatura
	EN Consult Instructions for Use ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso	FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης PT Consulte as instruções de utilização
	EN Biological risks ES Riesgo biológico IT Rischio biologico	FR Risques biologiques GR Βιολογικοί κίνδυνοι PT Risco biológico
	EN Catalogue number ES Número de catálogo IT Numero di catalogo	FR Référence du catalogue GR Αριθμός καταλόγου PT Referência de catálogo
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN Batch code ES Código de lote IT Codice del lotto	FR Code du lot GR Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote