



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS AMA-M2

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-M2

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

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

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

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus AMA-M2 está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-M2, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

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

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

El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa. El color que se

desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

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

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

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86084).

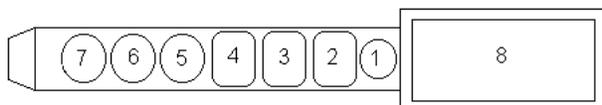
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86084/12).

DISPOSITIVOS

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

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

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con proteína M2 recombinante

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

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

CONTROL + CONTROL POSITIVO

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

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

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

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

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 18 AU/ml
 NEGATIVO cuando el resultado es < 12 AU/ml
 DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 12 y 18 AU/ml

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

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0 – 300.0 AU/ml

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

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

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

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

14. REACCIONES CRUZADAS

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

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

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

A continuación se muestran los datos de la prueba:

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

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

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

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

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

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

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

17. BIBLIOGRAFÍA

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



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

