



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS dsDNA-G

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG anti- dsDNA

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

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

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

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

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

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

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

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

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

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

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

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

Advertencias relacionadas con el análisis

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

1. **Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo CHORUS TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

El kit solo se puede utilizar con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de DIESSE

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

5. Comprobar que el equipo CHORUS TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté contactado con la Washing buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86032).

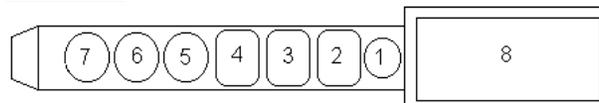
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86032/12).

DD DISPOSITIVOS

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

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

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con dsDNA altamente purificado.

Posición 5: POCILLO

No sensibilizado.

Posición 4: SUBSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 ml**

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

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

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

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

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

- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

La prueba puede ser interpretada como sigue:

POSITIVO cuando el resultado es > 30.0 IU/ml
NEGATIVO cuando el resultado es < 20.0 IU/ml
DUDOSO/EQUIVOCO cuando el resultado es entre 20.0 y 30.0 IU/ml

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

11. LIMITACIONES

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

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 10.0-150.0 IU/ml.

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

13. VALORES DE REFERENCIA

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

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

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

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

15. REACCIONES CRUZADAS

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

No se encontraron reacciones cruzadas significativas.

16. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

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

A continuación se muestran los datos de la prueba:

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

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

97.5% CI_{95%}: 87.0-99.5

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

97.4% CI_{95%}: 92.7-99.1

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

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

17. REPRODUCIBILIDAD

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

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

18. BIBLIOGRAFÍA

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