

CHORUS

ANTI-CCP



REF 86094

REF 86094/12

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

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	5





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS ANTI-CCP

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-CCP

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-peptide ciclico citrullinato (anti-CCP) nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

L'Artrite Reumatoide (RA) rappresenta la più comune malattia infiammatoria delle articolazioni, con una prevalenza che varia tra lo 0.5% e l'1% a livello mondiale.

Gli anticorpi diretti verso il peptide ciclico citrullinato (anti-CCP) sono altamente specifici per l'Artrite Reumatoide (RA); la loro determinazione è stata introdotta tra i criteri classificativi (ACR: American College of Rheumatology) e diagnostici della malattia.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo anti-CCP è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi anti-CCP, negli strumenti CHORUS.

Il test si basa sul principio ELISA.

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 TMB.

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.

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.
4. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato contiene fenolo
 - b) Il substrato è acido
 Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
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 impiegarli 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 la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).

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.
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, o campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
12. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
13. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
14. **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 86094).

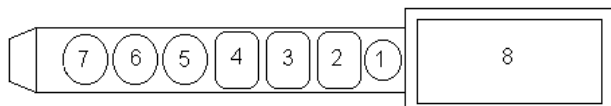
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86094/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86094).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86094/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con peptidi sintetici altamente purificati contenenti residui di citrullina

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione proteica salina contenente Proclin (0.1%)

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgG umane marcati con perossidasi, 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 pronto all'uso.

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

Contenuto: Siero umano diluito 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)
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di una 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. 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 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.

Campioni fortemente lipemici, itterici o inquinati non possono essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano.

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. 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 d'uso 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 fornisce un 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 AU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 12.0 AU/ml

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

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i risultati positivi necessitano di una attenta interpretazione.

Il test non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica. Un risultato negativo non preclude la eventualità di malattia.

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 AU/ml.

Per campioni >300AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti potenziali:

Fattore Reumatoide (44-220 UI/ml)

Bilirubina (4.5-45 mg/dl)

Trigliceridi (10-250 mg/dl)

Emoglobina (5-30 mg/ml)

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

14. CROSS-REATTIVI

Son stati testati 232 sieri provenienti dalla sieroteca con caratterizzazione clinica riportata nella tabella seguente:

Gruppo di campioni	n° TOT	Neg < 12AU/ml	Dub 12-18 AU/ml	Pos > 18AU/ml
Donatori Sani	90	88	0	2
Campioni Routine	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Tiroiditi	20	20	0	0
Rosolia IgM Positivi	5	5	0	0
Legionella IgM Positivi	4	4	0	0
Chlamydia Positivi	5	5	0	0
Salmonella Positivi	3	3	0	0
Toxoplasma g. IgM Positivi	6	6	0	0
Mycoplasma p. IgM Positivi	9	9	0	0
Anti-streptolisina Positivi	3	3	0	0
EBV IgM Positivi	4	4	0	0
Parvovirus IgM Positivi	5	5	0	0
LUE IgM Reattivi	6	5	1	0

La specificità clinica risulta essere :

Donatori Sani 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3-99.4%)

Campioni Routine 58/58 = 100% (CI_{95%}: 93.8-100%)

Malattie autoimmuni 33/34 = 97.1%(CI_{95%}: 85.1-99.5%)

Malattie Infettive 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7-100%)

15. STUDI DI COMPARAZIONE

174 campioni sono stati testati con un kit Diesse ed un kit della concorrenza.

I dati sono riportati nella tabella seguente:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Totale	81	93	174

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



Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica): 88.9%
 CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):
 97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo
 con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.88.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. BIBLIOGRAFIA

1. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
2. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281
3. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
4. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS ANTI-CCP

For the semiquantitative determination of IgG antibodies anti-CCP

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

Rheumatoid Arthritis (RA) is the most common inflammatory joints disease with a prevalence ranging between 0.5% and 1% worldwide.

Antibodies against cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) are highly specific for Rheumatoid Arthritis (RA) and their detection is one of the ACR-criteria for classification of RA (ACR : American College of Rheumatology) .

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The anti-CCP device is ready to use for the detection of antibodies against CCP in the CHORUS 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 conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated and the TMB 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 instruments.

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 material of human origin.

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 instrument.
4. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate contains phenol
 - b) The substrate is acid

If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.
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, 1.0% 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.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
5. Check that the Chorus instrument is set up correctly (see Chorus 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.
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed samples or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
12. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
13. Do not use the device after the expiry date.
14. **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 86094).

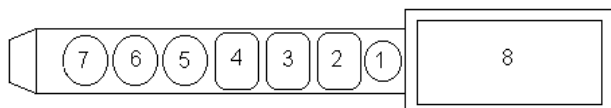
The kit is sufficient for 12 tests. (REF 86094/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86094).

2 packages each containing 6 devices (REF 86094/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL coated with highly purified synthetic peptides containing citrulline residues

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 IgG monoclonal antibodies labeled with horse radish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

Position 1: EMPTY WELL

in which undiluted serum must be added

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum, 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)
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. 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. Heat-inactivation can rise to erroneous results. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results. Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples cannot be used.

The test cannot be applied to plasma.

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 (add) 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus 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 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 instrument expresses the result in AU/ml calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument. The results can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the concentration in the sample is > 18 AU/ml

NEGATIVE: when the concentration in the sample is < 12 AU/ml.

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the concentration in the sample is between 12 and 18 AU/ml

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

11. LIMITATIONS

All the positive results require careful interpretation. The test can not be used alone for a clinical diagnosis. A negative result does not preclude the possibility of disease. The test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range of 3.0-300 AU/ml.

For samples > 300AU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (PF83607-not supplied with the kit).

13. ANALYTICAL SPECIFICITY

5 samples were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

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

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

14. CROSS REACTION

232 samples from the sera collection were tested, their clinical characteristics are listed in the following table:

Samples Group	n° TOT	Neg < 12AU/ml	Dub 12-18 AU/ml	Pos > 18AU/ml
Healthy Donors	90	88	0	2
Routine samples	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Thyroiditis	20	20	0	0
Rubella IgM Positive	5	5	0	0
Legionella IgM Positive	4	4	0	0
Chlamydia Positive	5	5	0	0
Salmonella Positive	3	3	0	0
Toxoplasma g. IgM Positive	6	6	0	0
Mycoplasma p. IgM Positive	9	9	0	0
Anti-streptolysin Positive	3	3	0	0
EBV IgM Positive	4	4	0	0
Parvovirus IgM Positive	5	5	0	0
LUE IgM Reactive	6	5	1	0

The clinical specificity is:

Healthy Donors 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3-99.4%)

Routine Samples 58/58 = 100% (CI_{95%}: 93.8-100%)

Autoimmune Disease 33/34 = 97.1% (CI_{95%}: 85.1-99.5%)

Infectious Disease 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7-100%)

15. METHOD COMPARISON

174 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit. Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Tot.	81	93	174

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity): 88.9%
CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity): 97.8%
CI_{95%}: 92.5 – 99.4

The agreement between the two methods is high with a Cohen's Kappa of 0.88.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Average (AU/ml)	CV%	Average (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Average (AU/ml)	CV%	Average (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. REFERENCES

1. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Puijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
2. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281
3. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
4. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future
Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS ANTI-CCP

K semikvantitativnímu stanovení protilátek třídy IgG proti CCP

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgG protilátek proti cycklickému citrulinovanému peptidu (anti-CCP) v lidském séru za použití jednorázového zařízení aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO..

2. ÚVOD

Revmatoidní artritida (RA) je nejběžnějším zánětlivým onemocněním kloubů s prevalencí pohybující se celosvětově mezi 0,5 % a 1 %.

Protilátky proti cycklickému citrulinovanému peptidu (anti-CCP) jsou vysoce specifické pro revmatoidní artritidu (RA) a jejich detekce je jedním z ACR kritérií pro klasifikaci RA (ACR: American College of Rheumatology).

3. PRINCIP METODY

Nástroj s anti-CCP je připraven k použití pro zkoušku na protilátky proti CCP v zařízení CHORUS.

Test je založen na principu ELISA (Enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška).

Antigen je vázán na pevnou fázi.

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

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

Nevázaný konjugát je eliminován a přidá se TMB 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.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však

žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS si důkladně umyjte ruce.
10. Následující reagenty obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých látek:
 - c) Konjugát a kontroly obsahují fenol.
 - d) Substrát obsahuje kyselinu.
 Příklad-li jakákoliv reagenty do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1.0% 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 obsahující chlornan sodný nevrháte do autoklávy.

Opatření pro správné provedení testu

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

15. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
16. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
17. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagenty, nepoužívejte.
18. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
19. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
20. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.

21. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
22. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
23. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
24. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
25. Než do zařízení vložíte nástroje, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
26. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
27. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
28. **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 86094).

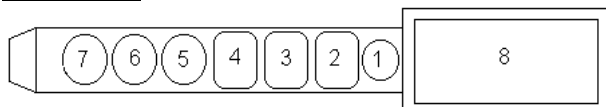
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86094/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86094).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86094/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA potažená vysoce purifikovanými syntetickými peptidy obsahujícími citrulinová rezidua

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: solný bílkovinný roztok s Proclinem (0.1%)

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: monoklonální anti-lidské protilátky IgG značené křenovou peroxidázou, **VE FOSFATOVÉM PUFRU OBSAHUJICIM 0.05% FENOL A 0.02% BRONIDOX.**

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.175 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum. Připraven k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.425 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum. Připraveno k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- PROMÝVACÍ PUFR WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- ČISTICI ROZTOK 2000 (REF 83609)
- DEZINFEKČNÍ ROZTOK Č. (REF 83604 - 83608)
- NEGATIVNÍ KONTROLA Č./ŘEDIDLO VZORKU (REF 83607)
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9, Validace testu).

Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum sebrané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí. 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. Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům. Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat. Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

Silně lipemické, ikterické, hemolyzované či kontaminované vzorky nelze použít.

Test nelze aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

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

4. Nástroje umístíte do zařízení Chorus a provedte kalibraci (je-li třeba) a test podle Návodu k obsluze zařízení Chorus.

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

Chorus nástroj vyjadřuje výsledky v AU/ml vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje. Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li koncentrace ve vzorku > 18 AU/ml
NEGATIVNÍ: je-li koncentrace ve vzorku < 12 AU/ml.

SPORNÉ/NEJASNÉ: je-li koncentrace ve vzorku mezi 12 a 18 AU/ml

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

11. OMEZENÍ

Všechny pozitivní výsledky vyžadují pečlivou interpretaci. Test nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Negativní výsledek předem nevylučuje možnost onemocnění. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 3.0–300 AU/ml.

Pro vzorky > 300AU/ml znova vzorek otestujte naředěný v ředidle pro negativní kontrolní vzorek (PF83607 – se v rámci soupravy nedodává).

13. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

5 vzorky byly ošetřeny následujícími potenciálně rušivými faktory, a poté otestovány:

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

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

14. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Bylo testováno 232 vzorků z kolekce sér a jejich klinickou charakteristiku shrnuje níže uvedená tabulka:

Skupina vzorků	n° TOT	Neg. < 12AU/ml	Spor. 12–18 AU/ml	Poz. > 18AU/ml
Zdraví dárce	90	88	0	2
Rutinní vzorky	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Tyroiditida	20	20	0	0
Pozitivní na rubeola IgM	5	5	0	0
Pozitivní na legionella IgM	4	4	0	0
Pozitivní na chlamýdii	5	5	0	0
Pozitivní na salmonelu	3	3	0	0
Pozitivní na Toxoplasma g. IgM	6	6	0	0
Pozitivní na Mycoplasma p. IgM	9	9	0	0
Pozitivní na Anti-streptolysin	3	3	0	0
Pozitivní na EBV IgM	4	4	0	0
Pozitivní na Parvovirus IgM	5	5	0	0
Reaktivní na LUE IgM	6	5	1	0

Klinická specifičnost je :

zdraví dárce 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3–99.4 %),
rutinní vzorky 58/58 = 100 % (CI_{95%}: 93.8–100%),
autoimunitní onemocnění 33/34 = 97.1% (CI_{95%}: 85.1–99.5%),
infekční onemocnění 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7–100%).

15. SROVNÁNÍ METOD

174 vzorků bylo testováno touto soupravou Diesse a konkurenční soupravou. Data jsou shrnuta v následující tabulce:

		Reference		
		+	–	Celkem
Diesse	+	72	2	74
	–	9	91	100
	Celkem	81	93	174

Percent Positive Agreement (~diagnostická citlivost): 88.9%
CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~diagnostická specifičnost):
97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vysoká s Cohenovou Kappa dosahující 0.88.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	CV %	Průměr (AU/ml)	CV %
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (AU/ml)	CV %	Průměr (AU/ml)	CV %
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. REFERENČNÍ LITERATURA

- The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
- Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273-281
- 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
- Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

	Datum výroby
	Použitelné do
	Nepoužívejte opakovaně
	Pozor, čtěte přiložené dokumenty
	Výrobce
	Obsah stačí na < n > testů
	Teplotní omezení
	Čtěte návod k použití
	Biologická rizika
	Katalogové číslo
	Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Kód šarže

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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS ANTI-CCP

**Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG έναντι CCP**

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι του κυκλικού κιτρουλλινοποιημένου πεπτιδίου (αντι-CCP) στον ανθρώπινο ορό με διάταξη μίας χρήσης που χρησιμοποιείται μαζί με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (P.A.) είναι η πιο κοινή φλεγμονώδης πάθηση των αρθρώσεων, με επίπτωση που κυμαίνεται μεταξύ 0,5% και 1% παγκοσμίως. Τα αντισώματα έναντι του κυκλικού κιτρουλλινοποιημένου πεπτιδίου (αντι-CCP) έχουν υψηλή ειδικότητα για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (P.A.). Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων αυτών συμπεριλήφθηκε στα κριτήρια ταξινόμησης (ACR: American College of Rheumatology) και διάγνωσης της πάθησης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ anti-CCP είναι έτοιμο για χρήση με σκοπό τον προσδιορισμό των αντισωμάτων anti-CCP στους αναλυτές CHORUS.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA.

Το αντιγόνο καθιλώνεται στη στερεά φάση.

Μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό, οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο.

Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν γίνεται η επώαση με το σύμπλοκο, που αποτελείται από ανθρώπινα αντισώματα αντι-ανοσοσφαιρινών συζευγμένων με υπεροξειδάση ραφανιδίων.

Απομακρύνεται το σύμπλοκο που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα TMB.

Το χρώμα που σχηματίζεται, είναι ανάλογο προς την συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων που βρίσκονται στον υπό εξέταση ορό.

Τα σετ ταινιών μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ, όταν χρησιμοποιούνται στη συσκευή Chorus.

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 εγκεκριμένα από την FDA τεστ, τόσο όσον αφορά την ανίχνευση του HbsAg όσο και για τα αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσματικό. Χρησιμοποιείτε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα παίρνοντας όλες τις προφυλάξεις που προβλέπονται από τους κανονισμούς ασφαλείας του εργαστηρίου.

Διάθεση αποβλήτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιούνται πρέπει να επεξεργάζονται ως μολυσματικά απόβλητα και στη συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.
3. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μόλις τελειώσετε το τεστ.
4. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - a) το σύμπλοκο και τα αντιδραστήρια ελέγχου περιέχουν φαινόλη
 - b) Το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
5. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η ζώνη που έχει μολυνθεί θα πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση φέρτε τα σετ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και χρησιμοποιήστε τα μέσα σε 60 λεπτά.

1. Απορρίψτε τις ταινίες όπου το υπόστρωμα (θέση 4) έχει γίνει μπλε
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστήριου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο του οργάνου.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης του γραμμικού κώδικα να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων.
8. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
10. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
12. Εισάγετε τον ορό που θα αναλυθεί (50 μ l) στην κυψελίδα 1 του σετ με σιφώνιο (βλ. εικόνα).
13. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.
14. Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με τον Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86094).

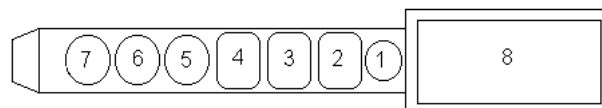
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86094/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86094).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86094/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Ευαισθητοποιημένο με συνθετικά πεπτιδία υψηλής καθαρότητας που περιέχουν υπολείμματα κίτρουλλίνης

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΜΠΛΟΚΟ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

Χρήση: Αφήστε να ισορροπήσει μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζεστε και βάλτε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, που περιέχει γέλη πυριτίου, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε την** πιέζοντας το ειδικό σύστημα κλεισίματος. Αποθηκεύστε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ **1 x 0.175 ml**

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός. Έτοιμος για χρήση

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ **1 x 0.425 ml**

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός. Έτοιμος για χρήση

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Στάνταρντ υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λ.π.
- Μικροπιπέτες που αναρροφούν με ακρίβεια όγκους 50-200 μ l
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την απόρριψη των δυνητικά μολυσματικών υλικών.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό 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 διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα αποτελείται από ορό που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και που έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους βασικούς κανονισμούς του εργαστηρίου. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C. Για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξετε στους -20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Αποφεύγετε τη χρήση αυτο-αποψυχόμενων ψυγείων για τη συντήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το καλά πριν το ρίξετε στην κυψελίδα. Η αδραννοποίηση λόγω θερμότητας μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Δείγματα με ισχυρή λιπαιμία, με ίκτερο, με αιμόλυση ή μολυσμένα δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται.

Το τεστ δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες,
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός 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. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο

ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την 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 ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αναλυτής Chorus υπολογίζει το αποτέλεσμα με βάση μια καμπύλη (ειδική για κάθε παρτίδα) που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη του μηχανήματος. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε αυθαίρετες μονάδες (AU/ml).

Τα αποτελέσματα εξέτασης των αναλυόμενων δειγμάτων ορού μπορούν να ερμηνευθούν ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι > 18.0 AU/ml

ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι < 12.0 AU/ml

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ όταν το αποτέλεσμα είναι 12.0 - 18.0 AU/ml

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Όλα τα θετικά αποτελέσματα χρειάζονται μία προσεκτική ερμηνεία.

Η εξέταση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτόνομα για κλινική διάγνωση. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει το ενδεχόμενο μόλυνσης.

Το αποτέλεσμα του τεστ πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί μαζί με κλινικά δεδομένα και από άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Ευρος Βαθμονομησης 3.0-300 AU/ml.

Για δείγματα >300AU/ml επαναλάβετε τη δοκιμασία, προσαρτώνοντας το δείγμα με Negative Control Sample Diuent (PF83607- **δεν παρέχεται με το kit**).

13. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία προσδιορισμού 5 δείγματα στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 UI/ml)

Χολερυθρίνη (4.5-45 mg/dl),

Τριγλυκερίδια (10-250 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5-30 mg/ml)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στον εξεταζόμενο ορό δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα της δοκιμασίας προσδιορισμού.

14. ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Εξετάστηκαν 232 αποθηκευμένα δείγματα ορού, τα οποία ανήκαν στις κλινικές κατηγορίες που αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα:

Ομάδα δειγμάτων	Σύνολο	Αρνητικό < 12AU/ml	Αμφίβολο 12-18 AU/ml	Θετικό > 18AU/ml
Υγιείς δότες	90	88	0	2
Δείγματα ρουτίνας	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Θυρεοειδίτιδες	20	20	0	0
Θετικά για IgM έναντι ερυθράς	5	5	0	0
Θετικά για IgM έναντι λεγεωνέλας	4	4	0	0
Θετικά για χλαμύδια	5	5	0	0
Θετικά για σαλμονέλα	3	3	0	0
Θετικά για IgM έναντι τοξοπλάσματος g.	6	6	0	0
Θετικά για IgM έναντι μυκοπλάσματος πνευμονίας	9	9	0	0
Θετικά για αντιστρεπτολυσίνη	3	3	0	0
Θετικά για IgM έναντι EBV	4	4	0	0
Θετικά για IgM έναντι παρβοϊού	5	5	0	0
Αντιδραστικά για IgM έναντι σύφιλης	6	5	1	0

Η ειδικότητα της μεθόδου όπως προκύπτει από τα κλινικά αποτελέσματα είναι:

Υγιείς δότες 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3-99.4%)

Δείγματα ρουτίνας 58/58 = 100% (CI_{95%}: 93.8-100%)

Αυτοάνοσες παθήσεις 33/34 = 97.1% (CI_{95%}: 85.1-99.5%)

Μολυσματικές παθήσεις 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7-100%)

15. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή δοκιμής, αναλύθηκαν 174 δείγματα που είχαν ταυτοποιηθεί με kit του εμπορίου.

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Σύνολο	81	93	174

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):
88.9% CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):
97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα, είναι βέλτιστος, με τιμή K (σταθερά του Cohen) 0,88.

16. ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ		ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΘΕΣΕΙΣ	
	Μέση Τ. (AU/ml)	CV%	Μέση Τ. (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Δείγμα	ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΠΑΡΤΙΔΩΝ		ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΣΥΣΚΕΥΩΝ	
	Μέση Τ. (AU/ml)	CV%	Μέση Τ. (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
2. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281
3. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
4. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS ANTI-CCP

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-CCP

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti- péptido citrulinado cíclico (anti-CCP) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La Artritis Reumatoide (AR) es la mas común enfermedad inflamatoria de las articulaciones, con una prevalencia que varía entre 0.5% y 1% en todo el mundo.

Los anticuerpos contra el péptido citrulinado cíclico (anti-CCP) son muy específicos para la artritis reumatoide (AR); su determinación se ha introducido entre los criterios de clasificación (ACR: American College of Rheumatology) y de diagnóstico de la enfermedad.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo anti-CCP es listo para su uso para la detección de anticuerpos anti-CCP en los equipos CHORUS.

El test se basa en la técnica ELISA

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 han 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 es eliminado y se añade el sustrato TMB.

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.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y dieron 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 completa garantía 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.

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavar las manos a fondo después de terminar la prueba.
4. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado y los controles contienen fenol
 - b) El sustrato es ácido
 Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante
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 vertido 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 1.0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. 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 todos los reactivos y las muestras 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 en los que falte algún reactivo.

4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras colocado en la 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.
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, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga partículas extrañas.
12. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
13. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.
14. **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 86094).

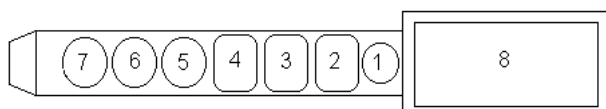
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86094/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86094).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86094/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con péptidos sintéticos altamente purificados que contienen residuos de citrulina

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 protéica salina que contiene Proclin (0.1%)

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 ml**

Contenido: Suero humano diluido. Listo para su uso.

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

Contenido: Suero humano diluido. 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)
- 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 por calor puede conducir a 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 AU/ml calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La prueba puede ser interpretada como sigue:

POSITIVO cuando el resultado es > 18.0 AU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 12.0 AU/ml

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado es entre 12.0 y 18.0 AU/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 clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0-300 AU/ml.

Para muestras > 300 AU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

5 muestras fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (44-220 UI/ml)

Bilirrubina (4.5-45 mg/dl)

Triglicéridos (10-250 mg/dl)

Hemoglobina (5-30 mg/ml)

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

14. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 232 sueros de la sueroteca con caracterización clínica reportada en la siguiente tabla:

Grupo de muestras	n° TOT	Neg < 12AU/ml	Dud 12-18 AU/ml	Pos > 18AU/ml
Donantes sanos	90	88	0	2
Muestras Routine	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Tiroiditis	20	20	0	0
Rubéola IgM positivos	5	5	0	0
Legionella IgM Positivos	4	4	0	0
Chlamydia Positivos	5	5	0	0
Salmonella Positivos	3	3	0	0
Toxoplasma g. IgM Positivos	6	6	0	0
Mycoplasma p. IgM Positivos	9	9	0	0
Antiestreptolisina Positivos	3	3	0	0
EBV IgM Positivos	4	4	0	0
Parvovirus IgM Positivos	5	5	0	0
LUE IgM Reactivos	6	5	1	0

La especificidad clínica es de :

Donantes sanos 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3-99.4%)

Muestras Routine 58/58 = 100% (CI_{95%}: 93.8-100%)

Enfermedades autoinmunes 33/34 = 97.1% (CI_{95%}: 85.1-99.5%)

Enfermedades Infecciosas 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7-100%)

15. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 174 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Total	81	93	174

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):
88.9% CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):
97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente, con un valor de K (constante de Cohen) de 0,88.

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. BIBLIOGRAFÍA

- 1.The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al. Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
2. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies.G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281
- 3.2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
4. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future

Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

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





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS ANTI-CCP

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

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgG anti-peptides cycliques citrullinés. (anti-CCP) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'arthrite rhumatoïde (RA) représente la maladie inflammatoire articulaire la plus répandue, avec une prévalence qui oscille entre 0.5% et 1% à l'échelle mondiale.

Les anticorps dirigés contre le peptide cyclique citrulliné (anti-CCP) sont extrêmement spécifiques pour l'arthrite rhumatoïde (RA); leur détermination a été introduite au nombre des critères de classification (ACR: American College of Rheumatology) et de diagnostic de la maladie.

3. PRINCIPE DE LA METHODE

Le dispositif anti-CCP est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps anti-CCP dans les appareils CHORUS.

Le test se base sur le principe ELISA.

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.

On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat TMB.

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.

4. PRECAUTIONS

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 le recherche de HbsAg que pour celles des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Etant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériel 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 calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

9. Ne pas pipeter avec la bouche.
10. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et durant l'essai.
11. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
12. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
 - c) Le conjugué et les contrôles contiennent du phénol
 - d) Le substrat est acide.
 Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, les laver à grande eau.
13. 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. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
14. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant; la zone contaminée devra être décontaminée 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.

15. Eliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.

16. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
17. 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.
18. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
19. S'assurer que l'instrument Chorus est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
20. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif à fin que l'instrument puisse le lire correctement.
21. Eviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
22. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
23. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
24. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
25. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
26. Pipeter le sérum examiné (50 µl) dans le puits 1 du dispositif (voir la figure).
27. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
28. **Contrôler si l'instrument a la connexion avec la Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86094).

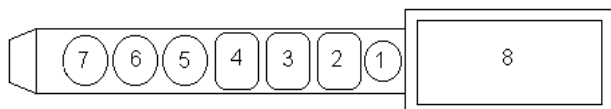
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86094/12).

DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86094).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86094/12).

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : Puits de la microplaque

Sensibilisé avec des peptides synthétiques hautement purifiés contenant des résidus de citrulline

Position 5 : Puits

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 ECHANTILLONS

Contenu : solution saline protéique contenant du Proclin (0.1%)

Position 2 : CONJUGUE

Contenu: anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués avec la peroxydase, dans une solution tamponnée au phosphate contenant du phénol à 0.05 % et du Bronidox à 0.02%.

Position 1 : Puits vide

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

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisées 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**

Contenuto: Sérum humain dilué. Prêt à l'usage.

CONTROL + CONTROLE POSITIF **1 x 0.425 ml**

Contenuto: Sérum humain dilué. Prêt à l'usage.

AUTRE MATERIEL NECESSAIRE 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)
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux: cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITES DE CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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 section 9 : validation du test).

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

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

CONTROLE POSITIF 8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ECHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé comme recommandé dans les procédures standard de laboratoire. 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. Peut subir jusqu'à un maximum de trois décongelations. L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations. Eviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.

Après décongelation, agiter avec soin avant le dosage. La non-activation à la chaleur peut provoquer des résultats erronés. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

Des échantillons fortement lipémiques, ictériques, ou contaminés ne devraient pas être utilisés.

Le test ne s'applique pas au plasma humain.

8. PROCEDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 : « Précautions analytiques ».
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu (on l'utilise comme décrit dans le Manuel d'utilisation du CHORUS). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors de la fourchette d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents viennent 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. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'appareil Chorus fournit le résultat en AU/ml résultat calculé sur base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Les résultats peuvent être interprétés comme suit:

POSITIF quand le résultat est > 18.0 AU/ml

NEGATIF quand le résultat est < 12.0 AU/ml

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

En cas de résultat incertain, refaire le test. Si le résultat reste douteux, répéter l'échantillon.

11. LIMITES DU TEST

Chaque résultat positif oblige à faire une interprétation attentive.

Le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique. Un résultat négatif n'exclut pas l'éventualité d'une infection.

Le résultat du test doit toujours être évalué en tenant compte des données cliniques et provenant d'autres procédures diagnostiques.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'Etalonnage 3.0-300 AU/ml.

Pour les échantillons >300AU/ml répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fourni avec le kit).

13. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

5 échantillons ont été testés, auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés:

Facteur rhumatoïde (44-220 UI/ml)

Bilirubine (4.5-45 mg/dl)

Triglycérides (10-250 mg/dl)

Hémoglobine (5-30 mg/ml)

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

14. RÉACTIONS CROISÉES

232 sérums provenant de la sérothèque et présentant une caractérisation clinique reproduite dans le tableau suivant ont été testés :

Groupe d'échantillons	n° TOT	Nég < 12AU/ml	Dout 12-18 AU/ml	Pos > 18AU/ml
Donneurs sains	90	88	0	2
Echantillons de routine	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Thyroïdite	20	20	0	0
IgM positifs pour la rubéole	5	5	0	0
IgM positifs pour la Legionellose	4	4	0	0
Positifs pour les chlamydia	5	5	0	0
Positifs pour la salmonelle	3	3	0	0
g. IgM positifs pour la toxoplasmose	6	6	0	0
p. IgM positifs pour les	9	9	0	0

mycoplasmes				
Positifs pour l'Antistreptolysine	3	3	0	0
IgM-positifs pour l'EBV	4	4	0	0
IgM-positifs pour le parvovirus	5	5	0	0
IgM-réactifsLUE	6	5	1	0

La spécificité clinique est la suivante :

Donneurs sains 88/90 = 97.8 % (CI_{95%}: 92.3-99.4 %)

Echantillons de routine 58/58 = 100 % (CI_{95%}: 93.8-100 %)

Maladies auto-immunes 33/34 = 97.1% (CI_{95%}: 85.1-99.5 %)

Maladies infectieuses 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7-100 %)

15. ÉTUDES DE COMPARAISON

Dans le cadre d'un protocole d'expérimentation, 174 échantillons caractérisés à l'aide d'un kit en vente dans le commerce ont été analysés.

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Total	81	93	174

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique):88.9%
CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique):
97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

Le taux de concordance entre les deux méthodes est excellent, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.88.

16. PRECISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Echantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne (AU/ml)	CV%	Moyenne (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Echantillon	INTER-LOTS		ENTRE INSTRUMENTS	
	Moyenne (AU/ml)	CV%	Moyenne (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. BIBLIOGRAPHIE

- The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
- Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies.G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281
- 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
- Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

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





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS ANTI-CCP

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-CCP

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-péptido citrulinado cíclico (anti-CCP) no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A Artrite Reumatoide (RA) representa a mais comum doença inflamatória das articulações, com uma prevalência que varia entre 0,5% e 1% a nível mundial.

Os anticorpos direccionados para o péptido citrulinado cíclico (anti-CCP) são altamente específicos para a Artrite Reumatoide (RA); a sua determinação foi introduzida entre os critérios de classificação (ACR: American College of Rheumatology) e de diagnóstico da doença.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo anti-CCP está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos anti-CCP, nos instrumentos CHORUS.

O teste baseia-se no princípio ELISA.

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, efectua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado que não se ligou e junta-se o substrato para o substrato TMB.

A cor que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro em ensaio.

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

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para A presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo, nenhum teste diagnóstico garante a ausência dos agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana precisam ser considerados potencialmente infecciosos. 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.

Precauções para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar muito bem as mãos no final do teste.
4. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado e os controlos contêm fenol
 - b) O substrato é ácido
 Em caso de contacto desses reagentes com os olhos e a pele, lavar abundantemente com água.
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfectados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfectação eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada 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 infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem à temperatura ambiente (18 a 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 verifique se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Controlar a presença dos reagentes nas cavidades do dispositivo e a integridade do dispositivo mesmo;

não usar dispositivos que, ao controle visual, faltam alguns reagentes.

4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
5. Controlar que o instrumento Chorus esteja programado correctamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, permitindo uma correcta leitura pelo equipamento.
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.
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus, verificar que o poço de reacção não contenha corpos estranhos.
12. Pipetar o soro em teste (50 µL) no poço 1 do dispositivo (ver a figura).
13. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
14. **Verificar se o instrumento tem a ligação ao Washing Buffer Autoimmunity (REF 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86094).

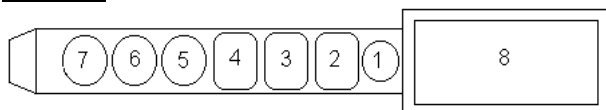
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86094/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86094).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86094/12).

Descrição:



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

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com péptidos sintéticos altamente purificados com resíduos de citrulina

Posição 5: POÇO

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina com Proclin (0.1%)

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgG humanas marcadas com peroxidase, 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 à 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. Pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído. 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)
- Água destilada ou desionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µL
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infecciosos

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 refazer a calibração e verificar a exactidão 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

A amostra é um soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de

laboratório. 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 do teste. Inativação de calor pode levar a resultados errôneos. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados. Não devem ser utilizadas amostras fortemente lipêmicas, ictericas ou contaminadas. Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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. Controlar 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. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exactidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Instruções do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efectuar 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 DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus fornece um resultado em AU/ml, calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento. Os resultados podem ser assim interpretados:

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

Repetir o teste em caso de resultado incerto. Se o resultado continua incerto, repetir a colheita.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os resultados positivos precisam de uma interpretação cuidadosa.

O teste por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. Um resultado negativo não significa que não possa existir uma infecção.

O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados clínicos e com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0-300 AU/ml.

Para amostras >300 AU/ml repita o teste pré-diluindo a amostra em Negative Control Sample Diluent (PF83607- não fornecido com o kit).

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

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

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

14. REACÇÕES CRUZADAS

Foram testados 232 soros provenientes da seroteca com a caracterização clínica indicada na tabela seguinte:

Grupo de amostras	n.º TOT	Neg < 12AU/ml	Dúb 12- 18 AU/ml	Pos > 18AU/ml
Dadores Saudáveis	90	88	0	2
Amostras Rotina	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Tiroidites	20	20	0	0
Rubéola IgM Positivos	5	5	0	0
Legionella IgM Positivos	4	4	0	0
Chlamydia Positivos	5	5	0	0
Salmonella Positivos	3	3	0	0
Toxoplasma g. IgM Positivos	6	6	0	0
Mycoplasma p. IgM Positivos	9	9	0	0
Antiestreptolisina Positivos	3	3	0	0
EBV IgM Positivos	4	4	0	0
Parvovirus IgM Positivos	5	5	0	0
LUE IgM Reativos	6	5	1	0

A especificidade clínica demonstra ser:

Dadores Saudáveis 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3-99.4%)

Amostras Rotina 58/58 = 100% (CI_{95%}: 93.8-100%)

Doenças autoimunes 33/34 = 97.1% (CI_{95%}: 85.1-99.5%)

Doenças infecciosas 50/50 = 100% (CI_{95%}: 92.7-100 %)

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação 174 amostras caracterizadas com um kit disponível no mercado:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Total	81	93	174

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):
88.9% CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):
97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Constante de Cohen) de 0.88.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. BIBLIOGRAFIA

1. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
2. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-

specific autoantibodies.G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281

3. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
4. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future
Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

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





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS ANTI-CCP

**Pentru determinarea semicantitativa a
anticorpilor IgG anti-CCP**

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor de clasa IgG impotriva peptidelor ciclice cetruinate (anti-CCP) in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Artrita Reumatoida (RA) este cea mai comuna afectiune inflamatorie a articulatiilor cu o raspandire variind intre 0.5% si 1%.

Anticorpii impotriva peptidelor ciclice cetruinate (anti-CCP) sunt puternic specifici Artritei Reumatoida (RA) si detectia lor este una dintre criteriile ACR pentru clasificarea RA (ACR : American College of Rheumatology).

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul anti-CCP este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor impotriva CCP pe instrumentele CHORUS.

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 imunoglobuline anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean.

Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul TMB.

Culoarea care se dezvoltă 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.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrării specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul CHORUS.
4. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante daunatoare sau iritante:
 - a) Conjugatul si controalele contin fenol
 - b) Substratul este acid

In cazul in care vreunul dintre reactivi intra in contact cu pielea sau cu ochii, spalati zona temeinic cu apa.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1,0%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1,0% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

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

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie

urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.

5. Verificati ca instrumentul Chorus sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument.
9. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
10. Utilizarea probelor puternic hemolizate sau a probelor prezentand contaminare microbiana, pot constitui surse de indicare a unei erori.
11. Inainte de a introduce dispozitivele in instrument, verificati ca godeul de reactie sa nu contina corpuri straine.
12. Pipetati serul de testare (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
13. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
14. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Tampon de Spalare Autoimunitate COD 86004.**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 86094).

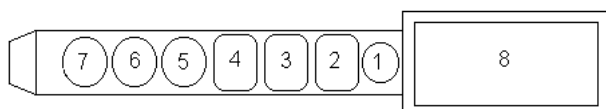
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 86094/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86094).

2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86094/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII captusit cu peptide sintetice puternic purificate, continand reziduuri citruline

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL si H₂O₂ 0.01% stabilizat in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: solutie proteica salina cu Proclin (0.1%)

Pozitia 2: CONJUGAT

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

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica gel, scoateti aerul din punga si sigilati prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.175 ml**

Continut: Ser uman diluat. Gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV **1 x 0.425 ml**

Continut: Ser uman diluat. Gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

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

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

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

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

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

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

Probele puternic lipemice, icterice, hemolizate sau contaminate trebuie evitate.

Testul nu poate fi aplicat pentru plasma.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului Chorus.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare. 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 exprima rezultatele in AU/ml calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memorie instrumentului.

Rezultatele pot fi interpretate dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este > 18 AU/ml

NEGATIV: cand rezultatul este < 12 AU/ml

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 12 si 18 AU/ml

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

11. LIMITARI

Toate rezultatele pozitive necesita o interpretare atenta.

Testul nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele negative nu exclud neaparat o eventuala infectie.

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 AU/ml.

Pentru probele cu un titru > 300 AU/ml, repetati testul pre-diluand proba cu Negative Control Sample Diluent (PF83607 – care nu este furnizat impreuna cu kitul).

13. SPECIFICITATEA ANALITICA

5 probe au fost injectate cu urmatoarele substante interferente si apoi testate:

Factor Reumatoid (44-220 IU/ml)

Bilirubina (4.5-45 mg/dl)

Trigliceride (10-250 mg/dl)

Hemoglobina (5-30 mg/ml)

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

14. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 232 probe din colectia de seruri, caracteristicile lor clinice sunt listate in tabelul urmator:

Grupul de Probe	n° TOT	Neg < 12AU/ml	Incert 12-18 AU/ml	Poz > 18AU/ml
Donatori Sanatosi	90	88	0	2
Probe de rutina	58	58	0	0
ANA	14	13	0	1
Tiroidita	20	20	0	0
Rubella IgM Pozitiv	5	5	0	0
Legionella IgM Pozitiv	4	4	0	0
Chlamydia Pozitiv	5	5	0	0
Salmonella Pozitiv	3	3	0	0
Toxoplasma g. IgM Pozitiv	6	6	0	0
Mycoplasma p. IgM Pozitiv	9	9	0	0
Anti-streptolysin Pozitiv	3	3	0	0
EBV IgM Pozitiv	4	4	0	0
Parvovirus IgM Pozitiv	5	5	0	0
LUE IgM Reactiv	6	5	1	0

Specificitatea clinica este:

Donatori Sanatosi 88/90 = 97.8% (CI_{95%}: 92.3-99.4%)

Probe de rutina 58/58 = 100% (CI_{95%}: 93.8-100%)

Afectiuni autoimune 33/34=97.1% (CI_{95%}: 85.1-99.5%)

Afectiuni infectioase 50/50 = 100%(CI_{95%}: 92.7-100%)

15. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 174 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata. Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	72	2	74
	-	9	91	100
	Total	81	93	174

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului):
88.9% CI_{95%}: 80.2 – 94.0

Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului):
97.8% CI_{95%}: 92.5 – 99.4

Acordul dintre cele doua metode este ridicat cu Cohen's Kappa
de 0.88.

16. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	64.9	2.8	65.1	4.1
2	26.3	2.5	26.5	13.4
3	27.0	3.6	26.7	12.4
4	15.9	7.5	15.6	13.3
5	16.8	5.8	15.8	11.5
6	8.1	5.6	7.5	12.8

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	63.3	3.3	63.3	3.5
2	25.2	7.6	25.2	7.1
3	25.5	7.7	25.5	7.4
4	15.7	7.1	15.7	8.2
5	15.8	6.3	15.9	6.4
6	7.2	6.3	7.2	7.1

17. BIBLIOGRAFIE

1. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis Ger JM Pruijnet et al., Arthritis Research & Therapy 2010, 12:203
2. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies.G A Schellekens et al. J Clin Invest. 1998 January 1; 101(1): 273–281
3. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative D. Aletaha et al. Ann Rheum Dis 2010;69:1580-1588 doi:10.1136/ard.2010.138461
4. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future
Walther J. van Venrooij et al. Nature Reviews Rheumatology 7, 391-398 (July 2011)

	Data fabricatiei
	A se folosi pana la
	A nu se refolosi
	Atentie, consultati documentele insotitoare
	Productator
	Continunt sufficient pt <n> teste
	Limita da temperatura
	Pentru utilizare consultati instructiunile
	Risk biologic
	Numar de catalog
	Dizpozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Lot

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



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione	FR Date de fabrication GR Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro	FR Utiliser jusqu'à GR Ημερομηνία λήξης PT Prazo de validade
	EN Do not reuse ES No reutilizar IT Non riutilizzare	FR Ne pas réutiliser GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση PT Não reutilizar
	EN Caution, consult accompanying documents ES Atención, ver instrucciones de uso IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR Attention voir notice d'instructions GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα PT Atenção, consulte a documentação incluída
	EN Manufacturer ES Fabricante IT Fabbicante	FR Fabricant GR Κατασκευαστής PT Fabricante
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR Contenu suffisant pour "n" tests GR Περιεχόμενο επαρκές για «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