



CHORUS

EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057 (36 tests)

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
DIESSE Diagnostica Senese
 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	4



INDICE / INDEX/ ÍNDICE

1. UTILIZZAZIONE / INTENDED USE/ INDICACIONES DE USO / FINALIDADE
2. INTRODUZIONE / SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST / RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST / INTRODUÇÃO
3. PRINCIPIO DEL METODO / PRINCIPLE OF THE TEST / PRINCIPIO DEL MÉTODO / PRINCIPIO DE AÇÃO
4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI / COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO / REAGENTES DO KIT E PREPARO
5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI / STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS / CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS / CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILDADE
6. PRECAUZIONI / PRECAUTIONS / PRECAUCIONES DE USO / PRECAUÇÕES
7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE / TYPE AND STORAGE OF SAMPLE /TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACION / TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS
8. PROCEDIMENTO / TEST PROCEDURE /PROCEDIMIENTO / PROCEDIMENTO DO TESTE
9. VALIDAZIONE DEL TEST / TEST VALIDATION / VALIDACIÓN DEL TEST / ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO
10. INTERPRETAZIONE DEL TEST / INTERPRETATION OF RESULTS / INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS / INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA /LIMITATIONS OF THE PROCEDURE / LIMITACIONES / LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO
12. SPECIFICITA' ANALITICA / ANALYTICAL SPECIFICITY / ESPECIFICIDAD ANALÍTICA / ESPECIFICIDADE ANALÍTICA
13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA / DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY/ SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO / SENSIBILIDADE E ESPECIFIDADE CLÍNICA
14. PRECISIONE / PRECISION / REPRODUCIBILIDAD / PRECISÃO
15. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DEGLI ANTICORPI IgG ANTI EPSTEIN-BARR NUCLEAR ANTIGEN (EBNA) NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS.

2. INTRODUZIONE

Il virus di Epstein-Barr (EBV) è un herpesvirus che causa la mononucleosi infettiva (IM). E' inoltre associato al linfoma di Burkitt, al carcinoma nasofaringeo e a sindromi linfoproliferative negli immunodepressi. Il virus è diffuso in tutto il mondo e l'80-90% della popolazione risulta sieropositiva.

La diagnosi di laboratorio di IM viene tradizionalmente fatta rivelando la presenza nel siero di anticorpi eterofili agglutinanti i globuli rossi di cavallo, che si sviluppano nel corso della malattia. Tuttavia tali anticorpi possono non essere presenti in soggetti con IM, specialmente al di sotto di 14 anni ed inoltre, possono persistere per oltre un anno dopo l'infezione. La sola ricerca di anticorpi eterofili può perciò portare ad una diagnosi errata.

E' perciò importante la ricerca di anticorpi diretti verso antigeni virali. In particolare si rivela utile la ricerca di anticorpi diretti verso il complesso antigenico denominato "Viral Capsid Antigen" (VCA) e l'antigene nucleare (EBNA).

Nel corso di IM gli anticorpi IgM e IgG anti-VCA compaiono precocemente, mentre gli anticorpi IgG anti-EBNA si sviluppano più tardi. Perciò la presenza di IgM anti-VCA in assenza di IgG anti-EBNA indica infezione in corso, mentre la presenza di IgG anti-VCA e anti-EBNA indirizza verso una diagnosi di infezione pregressa.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). L'EBNA ottenuto con tecnica ricombinante viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgG umane marcati con perossidasi.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

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

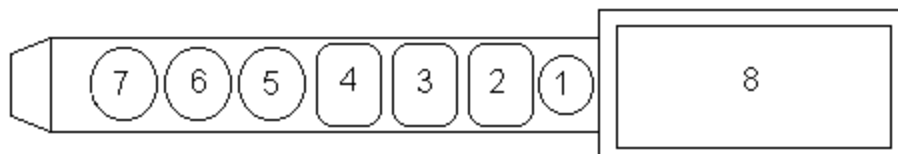
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

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.



Descrizione:

Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA sensibilizzato con antigeni ricombinanti EBNA.

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, contenente fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% e un indicatore per rivelare la presenza di siero.

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 indiluito.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Strumento Chorus / Chorus Trio
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente 50-200 µl
- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

5. 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

6. PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

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 legge vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus.
 2. 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.

3. 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.
4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, 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 pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.

2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e 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. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
8. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
9. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
10. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
11. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
12. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Il 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. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Dopo scongelamento agitare con cura prima del dosaggio. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati errati.

Campioni fortemente lipemici, itterici, emolizzati o inquinati non dovrebbero essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prendere 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 6 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero indiluito 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 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 range 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 il risultato in INDEX (rapporto fra il valore della D.O. del campione in esame e quello del Cut-off) che può essere impiegato come una misura quantitativa essendo proporzionale alla quantità di IgG specifiche.

Il campione risulterà:

Negativo: quando il risultato è < 0.8 .

Dubbio: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2.

Positivo: quando il risultato è > 1.2 .

In caso di risultato dubbio ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio, ripetere il prelievo dopo 1-2 settimane.

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il risultato del test deve servire unicamente come aiuto nella diagnosi e deve essere comunque valutato insieme a dati provenienti da altre procedure diagnostiche.

Esiste la possibilità di reazioni incrociate con campioni contenenti anticorpi anti-E. coli.

Le caratteristiche della performance non sono state stabilite per una interpretazione visiva. Inoltre non sono state studiate in pazienti affetti da carcinoma nasofaringeo, linfoma di Burkitt nè da altre linfadenopatie associate all'EBV, ad esclusione della mononucleosi correlata all'EBV.

Poichè gli anticorpi anti-EBNA IgG sono presenti in sieri normali convalescenti, non può essere utilizzata per la diagnosi un unico parametro. L'interpretazione accurata di un'infezione da EBV si deve basare sui risultati del VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM, oltre agli anticorpi eterofili

Il test va effettuato sul siero. Non è stata stabilita l'applicazione su sangue intero nè su plasma.

12. SPECIFICITÀ ANALITICA

Campioni negativi agli anticorpi IgG anti-EBNA e anti-VCA sono stati testati per la determinazione delle IgG anti-CMV, anti-Herpes Simplex e anti-Varicella. In nessun caso la presenza di detti anticorpi interferiva con il kit EBNA IgG.

13. SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA

Sono stati analizzati 101 campioni di cui era noto il risultato ottenuto con un metodo commerciale. 92 campioni risultavano positivi e 9 negativi in accordo tra i metodi. I risultati sono qui di seguito riassunti:

		RIFERIMENTO	
		+	-
CHORUS	+	92	0
	-	0	9

Il kit ha una sensibilità del 100% (CI 95%: 96–100) ed una specificità del 100% (CI 95%: 70–100).

14. PRECISIONE

Precisione all'interno della seduta

	No. repliche	Media Index	Dev. St.	CV%
Lotto no. 024	9	2.7	0.12	4
Lotto no. 025	9	2.6	0.15	6
Lotto no. 026	9	3.0	0.16	5

Precisione tra sedute

	DAY 1										Media	Dev. St.	CV%
	DAY1		DAY2		DAY3		DAY4		DAY5				
	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX					
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
EBN1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3	3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

*Artefatto dovuto al noto effetto di Variazione del Coefficiente che diventa estremamente sensibile a variazioni (anche molto piccole) quando il valore di media è vicino a zero.

15. BIBLIOGRAFIA

1. A. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).

2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Virol. Methods* 21: 133 (1988).
3. C. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. *J. Inf. Dis.* 151: 984 (1985).
4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. *J. Immunol. Methods* 67: 145 (1984).



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(English)

1. INTENDED USE

QUALITATIVE DETERMINATION OF IgG-CLASS ANTIBODIES TO EPSTEIN BARR NUCLEAR ANTIGEN (EBNA) IN HUMAN SERUM, USING A DISPOSABLE DEVICE APPLIED ON THE CHORUS INSTRUMENTS

2. INTRODUCTION

Epstein Barr Virus (EBV) is a herpesvirus which causes infectious mononucleosis (IM). It is also associated with Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma and lymphatic proliferative syndromes in immunodepressed patients. The virus is widespread throughout the world and 80-90% of the population is serum-positive.

The laboratory diagnosis of IM is traditionally performed by detecting heterophile antibodies which develop in the serum during the course of the infection, and which agglutinate horse erythrocytes. However, these antibodies may not always be present in patients affected by IM, particularly if below 14 years of age; furthermore, they may also persist for over a year after the infection. The determination of heterophile antibodies alone may therefore lead to an erroneous diagnosis. It is therefore important to determine the presence of antibodies towards the viral antigens. In particular, the detection of antibodies directed to the "Viral Capsid Antigen" (VCA) and the nuclear antigen (EBNA) is particularly useful.

During the course of IM, the IgM- and IgG-class antibodies to VCA appear early, while the IgG to EBNA develop later during the infection. The presence of IgM against VCA in the absence of IgG against EBNA therefore indicates that there is a current infection, while the presence of IgG against both VCA and EBNA is indicative of a prior infection.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

The EBNA, obtained by the recombinant technique, is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with dilute human serum.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of human IgG monoclonal antibodies conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added.

The colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

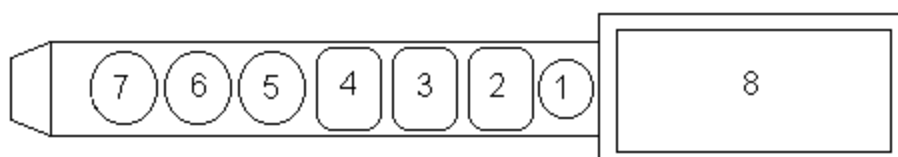
The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments.

4. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

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



Description:

Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: empty

Position 6: MICROPLATE WELL coated with a pool of EBV EBNA recombinant antigens

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: Proteic solution containing phenol 0.05%, Bronidox 0.02% and an indicator to reveal the presence of the serum.

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgG monoclonal antibodies labelled with horseradish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

Position 1: EMPTY WELL in which the operator must place the undiluted serum

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.425 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin, **liquid ready for use.**

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin, **liquid ready for use.**

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Chorus / Chorus Trio Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

5. 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 point 9, Test validation) .

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

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation:

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

6. PRECAUTIONS

ONLY FOR DIAGNOSTIC USE IN VITRO.

Attention:

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. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instrument.
2. 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.

3. 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 1.0%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
4. 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 be used 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. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
8. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
9. The use of strongly hemolyzed samples, incompletely coagulated serum or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
10. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
11. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
12. Do not use the device after the expiry date.

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

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. 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 should be avoided.

The test cannot be applied to plasma.

8. 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 the Analytical Warnings points 1 and 8.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the 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 as an INDEX (ratio between the OD value of the test sample and that of the Cut-Off) which can be used as a quantitative measure, as it is proportional to the amount of specific IgG present.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the ratio is > 1.2

NEGATIVE: when the ratio is < 0.8 .

DOUBTFUL: for all values between 0.8 and 1.2

In the case of a doubtful result, repeat the test. If the test remains doubtful, collect a new sample after 1-2 weeks.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The results obtained can only be used as a guide in the diagnosis and must always be evaluated together with results of other diagnostic procedures.

There is the possibility of cross reactions with samples containing anti-E. coli antibodies.

Performance characteristics have not been determined for a visual interpretation, nor have they been evaluated in patients affected by nasopharyngeal carcinoma, Burkitt's lymphoma or other lymphadenopathies associated with EBV, apart from EBV-related mononucleosis.

As anti-EBNA IgG antibodies are present in normal convalescent sera, the diagnosis cannot be established on the basis of a single parameter. An accurate interpretation of an EBV infection must be based on the results of VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM results, in addition to heterophyle antibodies.

The test must be performed on serum. The use of blood or plasma has not been established.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

Samples which were negative for anti-EBNA e anti-VCA IgG were tested for the determination of IgG anti-CMV, anti-Herpes Simplex and anti-Varicella. In no case did the presence of these antibodies interfere with the Enzywell EBNA IgG kit.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

101 samples, the result of which was known with another commercial method, were tested. 92 were positive and 9 negative, in agreement between the two methods. The results are summarized in the following table.

		REFERENCE	
		+	-
		92	0
CHORUS	+		
	-	0	9

The kit shows a sensitivity of 100% (CI 95%: 96–100) and a specificity of 100% (CI 95%: 70–100).

14. PRECISION

Within-run precision

	No. of replicates	Mean Index	St. Dev.	CV%
Lot no. 024	9	2.7	0.12	4
Lot no. 025	9	2.6	0.15	6
Lot no. 026	9	3.0	0.16	5

Between-run precision

		Between-run precision												
		DAY1		DAY2		DAY3		DAY4		DAY5		Mean	SD	CV%
		INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX					
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
EBN1		0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2		0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3		3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

* Artifact caused by the known fault of Variation Coefficient which becomes extremely sensitive to even very small changes in the mean when the mean value is near zero

15. REFERENCES

1. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).
3. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).

4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

1. ÚČEL POUŽITÍ

KVALITATIVNÍ STANOVENÍ PROTILÁTEK TŘÍDY IgG PROTI NUKLEÁRNÍMU ANTIGENU VIRU EPSTEINA A BARROVÉ (EBNA) V LIDSKÉM SÉRU POMOCÍ JEDNORÁZOVÉHO NÁSTROJE APLIKOVANÉHO DO ZAŘÍZENÍ CHORUS

2. ÚVOD

Virus Epstein a Barrové (EBV) je herpesvirus, který způsobuje infekční mononukleózu (IM). Bývá také spojován s Burkittovým lymfomem, nazofaryngálním karcinomem a lymfatickými proliferativními syndromy u pacientů s oslabenou imunitou. Virus je rozšířený po celém světě a 80–90 % populace je seropozitivní.

Laboratorní diagnóza IM se tradičně provádí detekcí heterofilních protilátek, které se v séru vyvinou v průběhu infekce a které aglutinují koňské erytrocyty. Tyto protilátky však nemusí být vždy u IM postižených pacientů přítomné, především jsou-li mladší 14 let. Kromě toho mohou také persistovat i více než jeden rok po infekci. Samotné stanovení heterofilních protilátek může proto vést k chybné diagnóze. Je tedy důležité stanovovat přítomnost protilátek proti virovým antigenům. Především detekce protilátek namířených proti „antigenu virové kapsidy“ (VCA) a jadernému antigenu (EBNA) je velice užitečná.

V průběhu infekce IM se protilátky třídy IgM a IgG proti VCA objevují již záhy, zatímco IgG protilátky proti EBNA až v pozdějším stádiu infekce. Proto přítomnost IgM protilátek proti VCA, i když chybějí IgG protilátky proti EBNA, indikuje probíhající infekci, zatímco přítomnost IgG jak proti VCA, tak i EBNA signalizuje dřívější infekci.

3. PRINCIP METODY

Test je založen na principu ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

EBNA získaný rekombinantní technikou je navázán na pevnou bázi. Inkubací s naředěným lidským sérem se na antigen naváže specifické imunoglobuliny.

Po promytí, při kterém dojde k eliminaci bílkovin, které nereagovaly, se provede inkubace s konjugátem složeným z lidských monoklonálních IgG protilátek konjugovaných křenovou peroxidázou.

Nyní je nenavázaný konjugát eliminován a přidá se peroxidázový substrát.

Zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

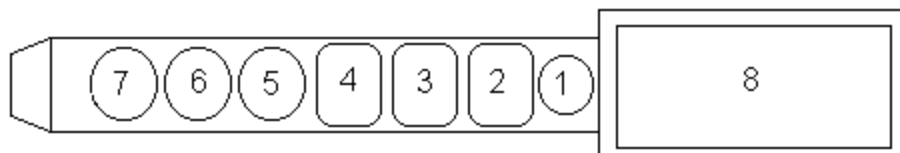
Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné pro provedení testu pomocí zařízení Chorus.

4. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava stačí na 36 testů.

DD NÁSTROJ 6 balení po 6 nástrojích

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.



Popis:

Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA potažená poolem EBV EBNA rekombinantními antigeny.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetrametylbendidin 0.26 mg/mL a H₂O₂ 0.01% stabilizovaný v 0.05 mol/L citrátového pufru (pH 3.8).

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující fenol 0.05%, Bronidox 0.02% a indikátor přítomnosti séra.

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: Antilidské monoklonální IgG protilátky značené křenovou peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA, do níž operátor umístí neředěné sérum.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.425 mL

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje Proclin a Gentamycin, **tekutina připravena k použití**.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM 1 x 0.425 mL

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje Proclin a Gentamycin, **tekutina připravena k použití**.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Zařízení Chorus / Chorus Trio
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

5. 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, Potvrzení testu).

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

Po otevření nebo přípravě mají reagencie omezenou stabilitu:

NÁSTROJ	8 týdnů při teplotě 2–8°C.
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2–8°C.
POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM	8 týdnů při teplotě 2–8°C.

6. UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Pozor:

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 přítomni, 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 nástroji obsahujícími materiál lidského původu je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat tak, jak je v tomto případě vyžadováno.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

5. Nepipetujte ústy. Při nakládání se vzorky mějte vždy nasazené jednorázové rukavice a ochranu očí. Po umístění nástrojů do zařízení CHORUS si vždy důkladně umyjte ruce.
6. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých substancí:
 - c) konjugát obsahuje fenol,
 - d) substrát je kyselina.
 Přejde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
7. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1,0 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.

8. Rozlité 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. Materiály obsahující chlornan sodný nekládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagenty, nepoužívejte.
4. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte proto, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
8. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
9. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
10. Než do zařízení nástroje vložíte, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
11. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
12. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.

7. TYP A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Vzorek se skládá ze séra získaného běžným způsobem ze žíly, který byl ošetřen v souladu se všemi opatřeními předepsanými v rámci správné laboratorní praxe. Čerstvé sérum je možné skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C nebo zmrazit na delší období na teplotu -20 °C; rozmrazit se smí maximálně 3krát. Rozmrazené vzorky je třeba před použitím opatrně protřepat. Mikrobiální kontaminace může vážně poškodit kvalitu vzorku a vést k chybným výsledkům.

Nesmějí se používat silně lipemické, ikterické, hemolyzované ani kontaminované vzorky.

Test není možné 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, jej opět uzavřete.
2. Podle instrukcí pod body 1 a 8 uvedenými v Opatřeních pro správné provedení testu zkontrolujte stav nástroje.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Nástroje umístěte do zařízení Chorus a proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle Návodu na obsluhu zařízení Chorus.

9. POTVRZENÍ TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte jej v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba opakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení chorus vyjadřuje výsledek jako INDEX (poměr mezi OD hodnotou testovaného vzorku a Cut-Off hodnotou), který lze použít jako kvantitativní míru, protože je proporcionální množství přítomných specifických IgG.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.2.

NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.8.

SPORNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.8 a 1.2.

V případě sporného výsledku test zopakujte. Je-li test i nadále sporný, seberte nový vzorek nejméně za 1 až 2 týdny.

11. OMEZENÍ PROCEDURY

Získané výsledky lze při diagnóze používat pouze jako vodítka a je třeba je vždy hodnotit spolu s výsledky ostatních diagnostických procedur.

Existuje možnost zkřížené reakce se vzorky obsahujícími protilátky proti E. coli.

S výjimkou případů EBV asociované mononukleózy nebyla charakteristika výkonu této procedury stanovena pro vizuální interpretaci, ani nebyla zkoumána, a to u pacientů postižených nazofaryngálním karcinomem, Burkittovým lymfomem ani jinou lymfadenopatií asociovanou s EBV.

Protože anti-EBNA IgG protilátky jsou přítomné v normálním konvalescenčním séru, nelze diagnózu stanovit na základě jediného parametru. Přesná interpretace EBV infekce musí být založena nejen na heterofilních protilátkách, ale i na výsledcích VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG a EA IgM.

Test je třeba provádět na séru, použití na krev nebo plazmu nebylo stanoveno.

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Vzorky, které vyšly negativní na anti-EBNA a anti-VCA IgG byly testovány na IgG anti-CMV, anti-Herpes Simplex a anti-Varicella. V žádném z případů nezpůsobila přítomnost těchto protilátek interferenci se soupravou Enzywell EBNA IgG.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFICITA

101 vzorků, jejichž výsledek byl znám díky jiné komerční metodě, bylo testováno tímto testem. 92 vyšlo pozitivních a 9 negativních, v souladu s referenční metodou. Výsledky shrnuje následující tabulka.

		REFERENCE	
		+	-
		92	0
CHORUS	+		
	-	0	9

Souprava vykazuje 100% citlivost (CI 95 %: 96–100) a specifitu také 100% (CI 95 %: 70–100).

14. PŘESNOST

Přesnost v rámci měření

	Počet replikátů	Střední index	Stand. odchylka	CV %
Šarže č. 024	9	2.7	0.12	4
Šarže č. 025	9	2.6	0.15	6
Šarže č. 026	9	3.0	0.16	5

Přesnost mezi měřeními

	DEN 1		DEN 2		DEN 3		DEN 4		DEN 5		Střední	Stand. odchylka	CV%
	INDEX		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX				
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
EBN1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3	3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

* Artefakt způsobený známou chybou variačního koeficientu, který se stává extrémně citlivým i na velmi malé změny průměru, blíží-li se průměrná hodnota nule.

15. GLOSÁŘ POUŽITÝCH SYMBOLŮ

	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

16. POUŽITÁ LITERATURA

- Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
- J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).
- Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).
- J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italy
Tel. 0577-587111



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Deutsch)

1. VERWENDUNGSZWECK

QUALITATIVE BESTIMMUNG DER ANTI-EPSTEIN-BARR NUCLEAR-ANTIGEN (EBNA) IgG-ANTIKÖRPER IM HUMANSERUM MIT EINEM EINWEG-TESTMODUL, DAS IN KOMBINATION MIT CHORUS LABORANALYSATOREN VERWENDET WIRD.

2. EINLEITUNG

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) ist ein Herpesvirus, das die infektiöse Mononukleose (IM) verursacht. Es wird außerdem mit dem Burkitt-Lymphom, dem Nasopharynxkarzinom und mit lymphoproliferativen Syndromen bei immunschwachen Patienten in Verbindung gebracht. Das Virus ist auf der ganzen Welt verbreitet und 80–90 % der Bevölkerung sind seropositiv.

Die Labordiagnose der IM erfolgt herkömmlicherweise durch den Nachweis der sich im Laufe der Krankheit entwickelnden heterophilen Antikörper im Serum, die die roten Blutkörperchen von Pferden agglutinieren. Es ist jedoch auch möglich, dass diese Antikörper bei Patienten mit IM nicht vorhanden sind, vor allem wenn diese jünger als 14 Jahre sind und weiters ist es möglich, dass sie bis zu einem Jahr nach der Infektion vorhanden sind. Die alleinige Suche nach heterophilen Antikörpern kann daher zu einer falschen Diagnose führen.

Daher ist die Suche nach direkten Antikörpern gegen virale Antigene wichtig. Insbesondere erweist sich die Suche nach direkten Antikörpern gegen den Antigenkomplex „Viral Capsid Antigen“ (VCA) und das nukleäre Antigen (EBNA) von Nutzen.

Im Verlauf der IM treten die Anti-VCA-IgM- und IgG-Antikörper frühzeitig auf, während sich die Anti-EBNA-IgG-Antikörper später entwickeln. Deshalb weist die Präsenz von Anti-VCA-IgM-Antikörpern bei Fehlen von Anti-EBNA-IgG-Antikörpern auf eine aktuelle Infektion hin, während die Präsenz von Anti-VCA- und Anti-EBNA-IgG-Antikörpern zur Diagnose einer früheren Infektion führt.

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das mit rekombinanter Technik gewonnene EBNA wird an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Peroxidase-markierten monoklonalen Anti-human-IgG-Antikörpern.

Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

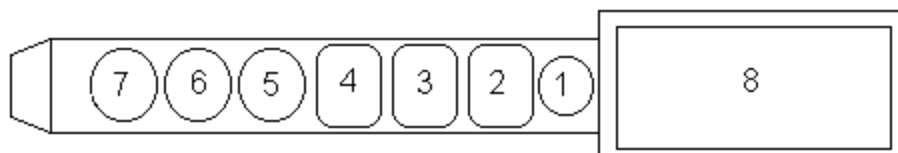
Die Intensität der Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus Laboranalysator durchführen zu können.

4. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Verwendung: Einem Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss versiegeln. Bei 2–8°C aufbewahren.



Beschreibung:

Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG, die mit rekombinanten EBNA-Antigenen sensibilisiert wurde

Position 5: nicht sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: 0.26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01% H₂O₂, stabilisiert in Citratpuffer (0.05 mol/l, pH 3.8)

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Proteinlösung mit 0.05 % Phenol, 0.02% Bronidox und einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte monoklonale Anti-human-IgG Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0.05 % Phenol und 0.02% Bronidox

Position 1: LEERE VERTIEFUNG, in die der Bediener das unverdünnte Serum füllt

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.425 mL

Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.425 mL

Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Chorus Laboranalysator/Chorus Trio
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von 50 bis 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

5. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9 Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8°C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8°C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8°C

6. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE**AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT**

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit FDA zugelassenen Methoden sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

5. Nicht mit dem Mund pipettieren. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
6. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
 - c) Das Konjugat enthält Phenol
 - d) Das Substrat ist sauer
 Wenn ein Reagenz mit der Haut oder mit den Augen in Berührung kommt, diese mit reichlich Wasser spülen.
7. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1%igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
8. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit gereinigt werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Reinigung von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30°C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

1. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
5. Kontrollieren, ob der Chorus Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
8. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
9. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
10. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
11. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
12. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird. Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20 °C eingefroren. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden. Nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen. Durch eine mikrobiische Kontamination kann die Qualität der Probe stark beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Stark lipämische, ikterische, hämolytische oder kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Der Test ist nicht bei humanem Plasma anwendbar.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 6 Warnhinweise zur Analyse, Punkte 1 und 8, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu untersuchenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses das Kontrollserum verwenden. Es wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für das Kontrollserum einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis des Kontrollserums weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus Laboranalysator liefert das Ergebnis als INDEX (Verhältnis zwischen dem Messwert der OD der untersuchten Probe und dem des Cut-off), der als quantitatives Maß verwendet werden kann, da er sich proportional zur Menge der spezifischen IgG-Antikörper verhält.

Die Probe ist:

Negativ: bei Ergebnis <0.8

Grauzone: bei Ergebnis zwischen 0.8 und 1.2

Positiv: bei Ergebnis >1.2

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt. Sollte das Ergebnis weiterhin in der Grauzone liegen, die Blutabnahme nach 1-2 Wochen wiederholen.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Das Testergebnis darf ausschließlich als Hilfe für die Diagnose dienen und muss in jedem Fall zusammen mit den Daten anderer diagnostischer Verfahren beurteilt werden.

Es besteht die Möglichkeit von Kreuzreaktionen bei Proben, die Anti-E. coli-Antikörper enthalten.

Die Performance-Eigenschaften für eine visuelle Interpretation wurden nicht festgelegt. Weiters wurden sie nicht bei Patienten mit Nasopharynxkarzinom, Burkitt-Lymphom oder anderen mit dem EBV in Zusammenhang stehenden Lymphadenopathien untersucht. Einzige Ausnahme ist die durch das EBV ausgelöste Mononukleose.

Da die Anti-EBNA-IgG-Antikörper in Seren während der normalen Konvaleszenz vorhanden sind, kann für die Diagnose nicht ein einziger Parameter herangezogen werden. Die sorgfältige Interpretation einer EBV-Infektion muss auf den Ergebnissen der Bestimmung der VCA-IgG, VCA-IgM, EBNA-IgG, EA-IgG und EA-IgM, sowie anderer heterophiler Antikörper erfolgen.

Der Test wird am Serum durchgeführt. Die Anwendung am Vollblut oder Serum ist nicht vorgesehen.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Gegen Anti-EBNA und Anti-VCA negative IgG-Antikörper wurden für die Bestimmung der Anti-CMV, Anti-Herpes-simplex und Anti-Varizella IgG-Antikörper getestet. In keinem Fall führte die Präsenz der genannten Antikörper zu Interferenzen beim Testsatz EBNA IgG.

13. DIAGNOSTISCHE SENSIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Es wurden 101 Proben analysiert, deren Ergebnis nach dem Test mit einem im Handel erhältlichen Verfahren bekannt war. In Übereinstimmung der Verfahren waren 92 Proben positiv und 9 negativ. Die Ergebnisse sind anschließend zusammengefasst:

		REFERENZ	
		+	-
CHORUS	+	92	0
	-	0	9

Die Sensivität des Testsatzes beträgt 100 % (CI 95 %: 96–100) und die Spezifität 100 % (CI 95 %: 70–100).

14. PRÄZISION

Präzision innerhalb eines Durchlaufs

	Anz. der Parallelproben	Mittelwert Index	St.-Testm.	CV %
Chargennr. 024	9	2.7	0.12	4
Chargennr. 025	9	2.6	0.15	6
Chargennr. 026	9	3.0	0.16	5

Präzision zwischen Durchläufen

Präzision zwischen Durchrechnen														
		TAG 1		TAG 2		TAG 3		TAG 4		TAG 5				
		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX				
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	Mittelwert	St.-Testm.	CV %
EBN1		0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2		0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3		3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

*Artefakt aufgrund des bekannten Effekts der Koeffizientenvariation, die äußerst empfindlich gegenüber Variationen wird (auch wenn diese sehr gering sind), wenn sich der Mittelwert nahe bei Null befindet.

15. SYMBOLERKLÄRUNG

	Herstellungsdatum
	Verwendbar bis
	Nicht wieder verwenden
	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen
	Hersteller
	Inhalt reicht für „n“ Tests
	Temperaturgrenzwerte
	Die Gebrauchsanleitung lesen
	Biologisches Risiko
	Katalognummer
	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum
	Chargennummer

16. LITERATUR

- A. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
- J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).

7. C. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).
8. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italien
Tel. 0039-0577-587111



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Ελληνικά)

1. ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ IgG ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ EPSTEIN-BARR (EBNA) ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΜΕ ΣΕΤ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗ ΣΥΣΚΕΥΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ CHORUS

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός Epstein-Barr (EBV) είναι ένας ιός έρπητα που προκαλεί την λοιμώδη μονοπυρήνωση (IM). Συνδέεται επίσης με το λέμφωμα του Burkitt, με το ρινο-φαρυγγικό καρκίνωμα και με την λεμφο-υπερπλασία των ατόμων που πάσχουν από ανοσοκαταστολή. Ο ιός είναι διαδεδομένος σε όλη την υδρόγειο και το 1'80-90% του πληθυσμού είναι οροθετικό.

Η εργαστηριακή διάγνωση της IM γίνεται συνήθως με την ανίχνευση ετερόφιλων αντισωμάτων που αναπτύσσονται στον ορό κατά την διάρκεια της λοίμωξης και προσκολλούνται στα ερυθρά αιμοσφαίρια του ίππου. Παρ' όλα αυτά τέτοια αντισώματα μπορεί να μην είναι παρόντα σε ασθενείς με IM, ειδικά κάτω των 14 ετών και, επιπλέον, μπορούν να παραμείνουν περισσότερο από ένα χρόνο μετά την λοίμωξη. Γι' αυτό τον λόγο η ανίχνευση μόνο των ετερόφιλων αντισωμάτων, μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση.

Είναι λοιπόν σημαντικός ο προσδιορισμός των αντισωμάτων εναντίον ιικών αντιγόνων. Ιδιαίτερα αποδεικνύεται χρήσιμη η ανίχνευση της παρουσίας αντισωμάτων κατά του αντιγονικού συμπλέγματος "Viral Capsid Antigen" (VCA) και του πυρηνικού αντιγόνου (EBNA).

Κατά την διάρκεια του κύκλου της IM τα αντισώματα IgM και IgG αντι-VCA εμφανίζονται πρόωρα, ενώ τα αντισώματα IgG αντι-EBNA αναπτύσσονται αργότερα. Γι' αυτό τον λόγο η παρουσία των IgM αντι-VCA, απουσία των IgG αντι-EBNA, είναι δείγμα λοίμωξης σε εξέλιξη, ενώ η παρουσία των IgG αντι-VCA και αντι-EBNA οδηγεί στη διάγνωση μίας προγενέστερης λοίμωξης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ βασίζεται στην μέθοδο ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). Το EBNA, που έχει παραχθεί με την μέθοδο ανασυνδυασμού συνδέεται με τη στερεά φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι IgG συζευγμένα με υπεροξειδάση.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.

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

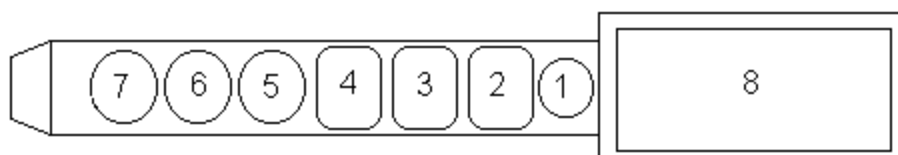
Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus.

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το όλο kit καλύπτει 36 τεστ.

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

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



Περιγραφή:

Θέση 8: Χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: άδεια

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ ευαισθητοποιημένη με ανασυνδυασμένα αντιγόνα EBNA

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05%, Bronidox 0.02% και έναν δείκτη που ανιχνεύει την παρουσία ορού.

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Συσκευή Chorus / Chorus Trio
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Στάνταρντ υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λ.π.
- Μικροπιπέτες που αναρροφούν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την απόρριψη των δυνητικά μολυσματικών υλικών.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΑΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια 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 σετ και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα Αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία:

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ	8 εβδομάδες σε 2/8°C

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Προσοχή:

Αυτή η συσκευασία 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.

Διαχείριση των κατάλοιπων: τα δείγματα του ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως κατάλοιπα δυνητικά μολυσματικά και να απορρίπτονται σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μετά από κάθε τοποθέτηση των σετ στο CHORUS.
2. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - α) το συζυγές περιέχει φαινόλη
 - β) το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
3. 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.
4. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η επιφάνεια να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την διαδικασία ανάλυσης. Αν τα υγρά περιείχαν ένα οξύ, τότε στεγνώστε πολύ καλά την επιφάνεια πριν χρησιμοποιήσετε το υποχλωριώδες νάτριο. 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 το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει καταναμηθεί 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 αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο της.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην πειράζετε και μην αλλοιώσετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης barcode να τον διαβάσει σωστά.
7. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
8. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
9. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
10. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
11. Περάστε τον ορό που θα αναλυθεί (50 µl) στην κυψελίδα 1 του σετ (βλ. εικόνα).
12. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

7. ΕΙΛΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

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

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

Το τεστ δεν μπορεί να γίνει πάνω σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλειστρου 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. 6 Αναλυτικές Οδηγίες, σημεία 1 και 8.

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 τεστ, 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

Η συσκευή Chorus παρέχει το αποτέλεσμα σε INDEX (λόγος της τιμής του D.O. του υπό ανάλυση δείγματος προς αυτήν του Cut-off) και που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ποσοτική μέτρηση, καθώς είναι ανάλογος προς την ποσότητα των ειδικών IgM.

Το δείγμα ορού μπορεί να αποδειχθεί:

Θετικό: όταν ο Index είναι > 1.2 .
 Αρνητικό: όταν ο Index είναι < 0.8 .
 Αμφίβολο: για όλες τις τιμές μεταξύ 0.8 και 1.2.

Σε περίπτωση αμφίβολου αποτελέσματος επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο, επαναλάβετε την αιμοληψία μετά από 1-2 εβδομάδες.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Το αποτέλεσμα του τεστ χρησιμεύει αποκλειστικά ως υποβοήθηση στην διάγνωση και πρέπει να επικυρωθεί μαζί με άλλα δεδομένα που προέρχονται από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

Υπάρχει πιθανότητα διασταυρούμενων αντιδράσεων με δείγματα που περιέχουν αντισώματα αντι-E. coli.

Τα χαρακτηριστικά της ανάλυσης δεν έχουν προκαθοριστεί για οπτική ερμηνεία. Επίσης δεν μελετήθηκαν σε ασθενείς που έπασχαν από ρινο-φαρυγγικό καρκίνωμα, από λέμφωμα του Burkitt, ούτε από άλλες λεμφαδενοπάθειες που συνδέονται με τον EBV, εκτός από την μονοπυρήνωση που συνδέεται με τον EBV.

Επειδή τα αντισώματα αντι-EBNA IgG ανιχνεύονται σε φυσιολογικούς ορούς ασθενών σε ανάρρωση, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διάγνωση μία και μόνη παράμετρος. Η ακριβής διάγνωση μίας λοίμωξης από EBV πρέπει να βασίζεται στα αποτελέσματα των VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG και EA IgM καθώς και στα ετερόφιλα αντισώματα.

Το τεστ πρέπει να γίνεται πάνω σε ορό. Δεν έχει καθοριστεί η εφαρμογή του στο ολικό αίμα ή στο πλάσμα..

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Δείγματα αρνητικά στα αντισώματα αντι-EBNA και αντι-VCA αναλύθηκαν για τον προσδιορισμό των IgG αντι-CMV, αντι-Απλού Έρπητα και αντι- Έρπητα Ζωστήρα. Σε καμία περίπτωση η παρουσία των ανωτέρω αντισωμάτων δεν επηρέασε το αποτέλεσμα του kit EBNA IgG.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αναλύθηκαν 101 δείγματα με γνωστή τιμή από μία εμπορική μέθοδο. Από αυτά 92 δείγματα αποδείχθηκαν θετικά και 9 αρνητικά και με τις δύο μεθόδους. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται παρακάτω:

		ΑΝΑΦΟΡΑ	
		+	-
CHORUS	+	92	0
	-	0	9

Το kit παρουσιάζει ευαισθησία 100% (CI 95%: 96–100) και διαγνωστική ειδικότητα 100% (CI 95%: 70–100).

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Ακρίβεια κατά την ανάλυση

	Αριθμός επαναλήψεων	M. T. Index	Τυπική Απόκλιση	CV%
Παρτίδα 024	9	2.7	0.12	4
Παρτίδα 025	9	2.6	0.15	6
Παρτίδα 026	9	3.0	0.16	5

Ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων

	DAY1		DAY2		DAY3		DAY4		DAY5		M. T.	Τυπική Απόκλιση	CV%
	INDEX		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX				
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
EBN1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3	3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

*τεχνασμα οφειλομενο στο γνωστο αποτελεσμα της διακυμανσης του συντελεστη που καθισταται εξαιρετικα ευαισθητος σε αλλαγες (ακομα και σε πολυ μικρες), οταν η τιμη των μεσων ειναι κοντα στο μηδεν.

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. A. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).
3. C. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).
4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgG ANTI EPSTEIN-BARR NUCLEAR ANTIGEN (EBNA) EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

El virus de Epstein-Barr (EBV) es un herpesvirus que causa la mononucleosis infecciosa (IM). Está además asociado al linfoma de Burkitt, al carcinoma nasofaringe y a síndromes linfático-proliferativos en pacientes inmunodeprimidos. El virus está extendido por todo el mundo donde el 80-90% de la población es seropositiva.

El diagnóstico serológico de IM se realiza tradicionalmente mediante la detección de anticuerpos heterófilos en suero mediante la aglutinación de eritrocitos de caballo, que se desarrollan durante el curso de la enfermedad. Sin embargo estos anticuerpos no siempre están presentes en sujetos afectados por IM, y en particular en pacientes menores de 14 años, aunque también pueden persistir después de la infección durante más de un año por lo que la determinación de anticuerpos heterófilos puede a veces conducir a un diagnóstico erróneo.

Por dicho motivo es importante la búsqueda de anticuerpos dirigidos contra antígenos virales. En particular, se apunta como más útil la búsqueda de anticuerpos dirigidos contra el complejo antigénico llamado "Viral Capsid Antigen" (VCA) y el antígeno nuclear (EBNA).

Durante el curso de IM los anticuerpos IgM e IgG anti-VCA aparecen muy precozmente, mientras los anticuerpos IgG anti-EBNA se desarrollan posteriormente. Por eso la presencia de IgM anti-VCA en ausencia de IgG anti-EBNA indica que hay una infección en curso, mientras que la presencia de IgG anti-VCA e anti-EBNA es indicativo de una de infección pasada.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El método se basa en la técnica ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

El antígeno, EBNA parcialmente purificado e inactivo, está unido a la fase sólida. Después de la incubación con la muestra de suero del paciente previamente diluido, los anticuerpos específicos IgG estarán unidos al antígeno. Tras varios lavados para eliminar las posibles inespecificidades o los componentes de la muestra que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, anticuerpos monoclonales humanos anti-IgG marcados con un enzima, peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido es eliminado mediante lavados y seguidamente se añade el sustrato cromogénico que en presencia del enzima se transforma en producto final de color azul. El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos IgG específicos presentes en la muestra de suero.

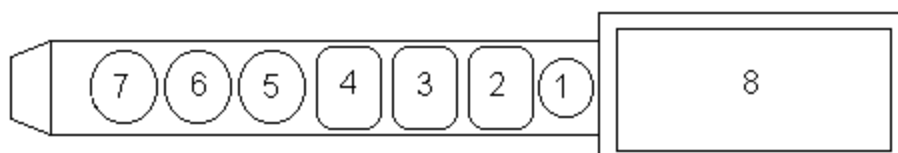
Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos necesarios para realizar la prueba en los instrumentos Chorus

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

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



Descripción:

Posición 8: espacio libre para etiquetas con códigos de barra

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA SENSIBILIZADO con antígenos recombinantes EBNA .

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas que contiene fenol al 0.05% y Bronidox 0.02% y un marcador para revelar la presencia de suero.

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.425 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento Chorus / Chorus Trio
- Agua Destilada u desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer volúmenes de 50-200 µl
- Guantes de un solo uso
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

5. 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 mediante suero de control (ver capítulo 9 validación del test)

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 abertura y/o de la preparación:

DISPOSITIVOS	8 SEMANAS 2/8°C
CALIBRADOR	8 SEMANAS 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 SEMANAS 2/8°C

6. PRECAUCIONES DE USO

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Cuidado:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido probados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas 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 infecto. Todos los materiales de origen humano tienen que manejarse según las prácticas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras. Lavar las manos a fondo después de colocar los dispositivos en el equipo CHORUS.
2. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado contiene fenol
 - b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.

3. 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.
4. 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 dispositivos 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 Chorus.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
8. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
9. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
10. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
11. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
12. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.

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 y no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos. No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas.

El test no se puede aplicar a 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 6 Precauciones Analíticas puntos 1 y 8.
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 DEL TEST

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 el resultado en INDEX (relación entre el valor de la D.O. de la muestra y lo del Cut-off) que puede ser empleado como medida cuantitativa por siendo proporcional a la cantidad de IgG específicas. La muestra se considera:

Positivo: si el Index es > 1.2 .

Negativo: si el Index es < 0.8 .

Dudoso: para todos los valores entre 0.8 y 1.2.

En caso de resultado dudoso, se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continua siendo dudoso, recoger una nueva muestra de sangre después de 1-2 semanas.

11. LIMITACIONES

El resultado del test sirve sólo como ayuda en la diagnóstico y debe ser evaluado junto con datos procedentes de otros procedimientos de diagnóstico.

Existe la posibilidad de reacciones cruzadas con muestras conteniendo anticuerpos anti-E. coli.

Las características de la performance no han sido establecidas para una interpretación visual. Además no se estudiaron en pacientes afectados por carcinoma nasofaringe, linfoma de Burkitt ni por otras linfadenopatías asociadas a EBV, excluyendo la mononucleosis correlada a EBV.

Ya que los anticuerpos anti-EBNA IgG son presentes en sueros normales convalecientes, no puede ser utilizada para la diagnóstico un único parámetro. La interpretación cuidadosa de una infección por EBV se basa sobre los resultados del VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG y EA IgM, además que los anticuerpos eterófilos. El test se efectúa sobre el suero. No se estableció todavía la aplicación sobre sangre total ni sobre plasma.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Muestras de pacientes negativos a los anticuerpos IgG anti-EBNA e anti-VCA se probaron para la determinación de las IgG anti-CMV, anti-Herpes Simplex y anti-Varicella. En ningún caso la presencia de dichos anticuerpos interfería con el kit EBNA IgG.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

101 sueros se analizaron de las cuales era conocido el resultado obtenido con un método comercial. 92 muestras resultaban positivas y 9 negativas en acuerdo entre los métodos. Los resultados son resumidos en la tabla siguiente.

		REFERENCIA	
		+	-
CHORUS	+	92	0
	-	0	9

El kit tiene una sensibilidad del 100% (CI 95%: 96–100) y una especificidad del 100% (CI 95%: 70–100).

14. REPRODUCIBILIDAD

Reproducibilidad intra-ensayo

	Número de réplicas	Media Index	Desv. Estándar	CV%
Lot no. 024	9	2.7	0.12	4
Lot no. 025	9	2.6	0.15	6
Lot no. 026	9	3.0	0.16	5

Reproducibilidad entre ensayos

	DAY1		DAY2		DAY3		DAY4		DAY5		Media	Desv. Estándar	CV%
	INDEX		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX				
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
EBN1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3	3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

* Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los cambios (aunque muy pequeño) cuando el valor promedio es acerca de 0.

15. BIBLIOGRAFIA

1. A. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).
3. C. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).
4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



NOTICE D'UTILISATION

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Français)

1. UTILISATION

DETERMINATION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgG DIRIGES CONTRE L'ANTIGENE NUCLEAIRE DU VIRUS EPSTEIN BARR DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF MONO USAGE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS.

2. INTRODUCTION

Le virus d'Epstein Barr (EBV) fait parti du groupe *Herpes viridae*. La mononucléose est la situation clinique la plus fréquente. L'EBV est aussi associé au lymphome de Burkitt, au cancer du rhinopharynx et à certains syndromes lymphoprolifératifs B, chez le sujet immunodéprimé. A l'âge adulte, 80 à 90 % de la population possède des anticorps dirigés contre EBV.

Le diagnostic sérologique de la mononucléose infectieuse (MNI) peut être réalisé à l'aide de deux types de réactions complémentaires : la recherche des anticorps hétérophiles, en pratiquant la réaction de Paul Bunell et Davidsohn (PBD) ou une des variantes sur lames. Toutefois, ces anticorps ne sont pas toujours présents chez les sujets atteints de MNI, particulièrement chez les moins de 14 ans et en outre, ils peuvent rester présents dans le sérum plus d'un an après l'infection. La recherche seule des anticorps hétérophiles peut conduire à un diagnostic erroné.

Pour cette raison, la recherche des anticorps spécifiques anti-EBV est importante. En particulier, la recherche des anticorps dirigés contre l'antigène de capsid (VCA) et l'antigène nucléaire (EBNA) peut être très utile.

Pour les autres pathologies liées à l'EBV, le diagnostic sérologique est basé sur la recherche des anticorps spécifiques de l'EBV.

Lors d'une primo-infection, les anticorps anti-VCA (IgG et IgM) apparaissent précocément. Les anticorps anti-EBNA apparaissent plus tardivement.

Un profil dissocié (présence d'IgM anti-VCA et absence d'IgG anti-EBNA) indique une primo-infection. Il pourra être confirmé par la présence d'IgM anti-VCA.

Un profil non dissocié (présence d'IgG anti-VCA et d'IgG anti-EBNA) indique une infection ancienne.

3. PRINCIPE

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). L'EBNA, obtenu par une technique recombinante, est lié à la phase solide. A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après des lavages pour éliminer les protéines qui ne se sont pas liés, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués à la peroxydase.

On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat. La couleur qui se produit est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques dans le sérum en examen.

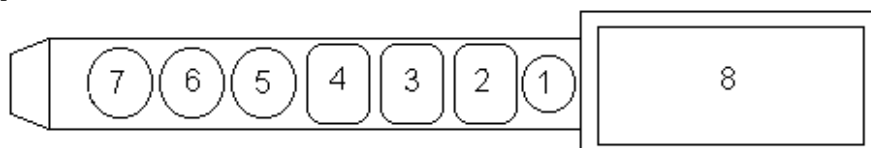
Les dispositifs à jeter contiennent tous les réactifs pour effectuer le test appliqué aux instruments Chorus.

4. CONTENU DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Un kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 confections contenant 6 dispositifs chacune.

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



Description:

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

Position 7: vide

Position 6: PUIITS DE LA MICROPLAQUE sensibilisé avec les antigènes recombinants EBNA.

Position 5: PUIITS DE LA MICROPLAQUE non sensibilisé

Position 4: SUBSTRAT TMB

Contenu: Tétraméthylbenzidine (à 0.26mg/mL) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 0.01%) stabilisé dans un tampon citrate (à 0.05mol/l). pH = 3.8

Position 3: DILUENT DES ECHANTILLONS

Contenu: Solution protéique additionnée de 0.05% de phénol et 0.02% de bronidox et une indicateur pour révéler la présence du sérum.

Position 2: CONJUGUE

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

Position 1: PUIITS VIDE dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.425 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage**.

CONTROL + CONTROLE POSITIF 1 x 0.425 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage**.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrument Chorus / Chorus Trio
- Eau distillée ou désionisée
- Verrerie normale de laboratoire (éprouvette, pipette, etc...)
- Micropipette capable de prélever 50-200 µl de solution
- Gants mono-usage
- Solution d'hypochlorure de sodium (5%)
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectieux

5. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Conserver les réactifs à +2-8°C. En cas d'une température de conservation incorrecte, il faut répéter la calibration et contrôler le résultat à travers l'utilisation du sérum de contrôle (voir section 9, Validation du test). La date de péremption est imprimée sur chaque flacon et sur l'étiquette-coffret.

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

6. PRECAUTIONS D'UTILISATION POUR DIAGNOSTIC IN VITRO.

ATTENTION:

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine. Les réactifs contenant du matériel d'origine humaine ont été contrôlés et trouvés négatifs pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2, anti-VHC et pour l'antigène HBsAg (selon la méthode FDA). Cependant, puisqu'il n'existe pas de méthode diagnostique capable de garantir l'absence des agents infectieux, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux et par conséquent manipulés avec précaution.

Elimination des résidus: les échantillons de serum, les étalons et les bandelettes usages doivent être traités come des déchets infectés, et donc éliminés conformément aux dispositions de loi en vigueur.

PRECAUTIONS DE SECURITE

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à usage unique et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons. Se laver soigneusement les mains après avoir distribué les dispositifs dans le Chorus.
2. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
 - a) Le conjugué contient du phénol
 - b) Le substrat est acide.
3. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorure 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.
4. En cas de versement accidentel de matériaux potentiellement infectieux, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorure de sodium (1%), avant de continuer le test. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorure de sodium. Tout matériel (notamment les gants) souillé par d'éventuelles éclaboussures doit être considéré comme potentiellement infectieux et éliminé selon la réglementation en vigueur. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant l'hypochlorure de sodium.

PRECAUTIONS ANALYTIQUES

Laisser les réactifs revenir à température ambiante (+18-30°C) et utiliser entre 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut contrôler qu'il est bien distribué sur le fond.
3. Contrôler la présence des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif même; il ne faut pas utiliser des dispositifs qui présentent au contrôle visuel l'absence de quelque réactif.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
5. Contrôler l'assiette de l'instrument Chorus (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
6. Ne pas modifier le code à barres sur la poignée du dispositif à la fin de permettre la correcte lecture par l'instrument.
7. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
8. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorure pendant la conservation et l'usage.
9. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
10. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
11. Dispenser le sérum en examen (50 µl) dans le puits no. 1 du dispositif (voir la figure).
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est constitué par sérum obtenu du sang prélevé normalement et manipulé selon les procédés standard de laboratoire. Le sérum frais peut être stocké à +2/+8°C pendant 4 jours; pour un stockage plus long, congeler les sérums à -20°C. Éviter l'utilisation de l'espace de congélateur à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Il ne faut pas les décongeler et recongeler plus de 3 fois. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant utilisation. Les échantillons qui présentent une contamination microbienne peuvent fausser les résultats.

Il ne faut jamais utiliser d'échantillons fortement lipémiques, ictériques, hémolysés ou pollués.

Ne pas utiliser d'échantillon de plasma humain.

8. MODE OPERATOIRE

1. Découper le sachet du côté contenant la fermeture à pression, sortir le numéro 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 6 : Précautions analytiques no. 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque change du lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer la calibration (si nécessaire) et le test selon le procédé reporté dans le Manuel 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 du Chorus). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors du range d'acceptabilité, il faut répéter la calibration. 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.

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

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'instrument Chorus reporte un résultat comme INDEX (rapport entre la valeur de la D.O. de l'échantillon en examen et celle de la valeur seuil (Cut-Off); l'index peut être utilisé comme mesure quantitative, proportionnelle à la quantité des IgG spécifiques.

L'échantillon est considéré comme:

Positif : si l'Index est > 1.2
Négatif : si l'Index est < 0.8
Douteux : si l'Index est compris entre 0.8 et 1.2

Si le résultat est douteux, répéter le test. Si le résultat est de nouveau douteux, réaliser un nouveau prélèvement de l'échantillon de sang.

11. LIMITES DE LA METHODE

Les résultats obtenus sont une aide au diagnostic; ils doivent être interprétés en fonction des résultats des autres méthodes diagnostiques.

Il y a la possibilité de réactions croisées avec des échantillons contenant des anticorps anti-E. coli. Les performances du test n'ont pas été évaluées chez les sujets atteints de lymphome de Burkitt, de cancer du rhinopharynx ou d'autres lymphadénopathies associées à l'EBV, à l'exclusion de la mononucléose associée à l'EBV.

Les anticorps IgG anti-EBNA étant retrouvés chez les patients en convalescence, le diagnostic ne peut pas être établi sur la seule base du résultat du test ENZYWELL Epstein Barr EBNA IgG.

Le diagnostic d'une infection à EBV ne peut pas se baser seulement sur les résultats d'un seul paramètre EBV, mais il faut considérer l'ensemble des résultats des paramètres EBV (VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG et EA IgM).

Le test doit être effectué sur sérum. L'utilisation de sang total ou de plasma n'a pas été validée.

12. SPECIFICITE ANALYTIQUE

Des échantillons de sérum négatifs pour les anticorps IgG anti-EBNA et IgG anti-VCA ont été testés pour la détection des anticorps IgG anti-CMV, anti-*Herpes Simplex* et anti-*Varicella*.

Aucune interférence avec le test EBNA IgG n'a été mise en évidence.

13. SENSIBILITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUES

101 échantillons ont été testés avec ce test et avec une autre méthode disponible sur le marché. 92 échantillons étaient positifs et 9 négatifs, en accord entre les deux méthodes. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous:

		REFERENCE	
		+	-
CHORUS	+	92	0
	-	0	9

La sensibilité est de 100% (CI 95%: 96–100) et la spécificité de 100% (CI 95%: 70–100).

14. PRECISION

Précision dans la série

	Nombre de répliques	Moyen Index	S.D.	CV%
Lot no. 024	9	2.7	0.12	4
Lot no. 025	9	2.6	0.15	6
Lot no. 026	9	3.0	0.16	5

Précision inter- séries

DAY1	DAY2	DAY3	DAY4	DAY5
INDEX	INDEX	INDEX	INDEX	INDEX

	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	Moyen	S.D.	CV%
EBN1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3	3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

*Artefact dû à l'effet connu de Variation du Coefficient qui devient extrêmement sensible aux variations (même très petites) quand la valeur de moyenne est proche de zéro.

15. **BIBLIOGRAPHIE**

1. A. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).
3. C. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).
4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



INSTRUÇÕES PARA USO

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Português)

1. FINALIDADE

DETECÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS IgG CONTRA O ANTÍGENO NUCLEAR DO EPSTEIN BARR (EBNA) EM SORO HUMANO, USANDO UM DISPOSITIVO DESCARTAVEL APLICADO AOS EQUIPAMENTOS CHORUS

2. INTRODUÇÃO

O vírus do Epstein Barr (EBV) é um vírus herpético que causa a mononucleose infecciosa (MI). Também é associado com o linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo e síndrome linfática proliferativa em pacientes imunodeficientes.

O vírus é espalhado em todo mundo e 80-90% da população é soro positivo.

A diagnose laboratorial da MI geralmente é feita detectando os anticorpos heterofilos, que se desenvolvem no curso da infecção, e que aglutinam os eritrócitos de cavalo. Porém estes anticorpos podem não ser sempre presentes em pacientes com MI, em modo específico se abaixo de 14 anos de idade; ainda mais, estes anticorpos podem persistir por mais de um ano depois da infecção. Portanto, a simples detecção de anticorpos heterofilos pode gerar uma diagnose errada. Por isso é importante detectar a presença de anticorpos contra os antígenos virais. Em particular, a detecção de anticorpos contra o "Viral Capsid Antigen" (VCA) e contra o antígeno nuclear é muito importante.

Durante a MI, os anticorpos IgM e IgG contra VCA aparecem primeiros, enquanto as IgG contra EBNA são desenvolvidas mais tarde durante a infecção. A presença de anticorpos IgM contra VCA, em ausência de anticorpos IgG contra EBNA, indica uma infecção em curso, enquanto a presença de anticorpos IgG contra VCA e contra EBNA indica uma infecção passada.

3. PRINCÍPIO DE AÇÃO

O teste é um ensaio imunoenzimático (ELISA). O antígeno EBNA, recombinante, é insolubilizado na fase sólida. Durante a incubação com soro humano diluído, as imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno insolubilizado. Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra não ligados são removidos. Em uma segunda incubação as ligações de IgG anti-EBNA são detectadas pela adição de anticorpo monoclonal anti-IgG humana, conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Após aspiração e lavagem outros componentes do conjugado não ligados são removidos.

A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno-substrato, gera um sinal óptico que é proporcional a quantidade de IgG anti-EBNA presente na amostra.

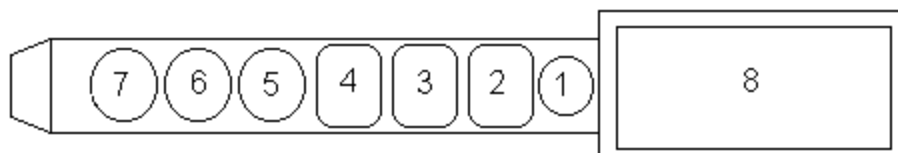
Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes necessários para realizar o teste, se aplicados aos equipamentos CHORUS.

4. REAGENTES DO KIT E PREPARO

Os reagentes são suficientes para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 confecções contendo 6 dispositivos cada.

Uso: **equilibrar uma confecção em temperatura ambiente**, abrir a confecção e remover os dispositivos necessários; retornar os dispositivos restantes no envelope com dessecante, esvaziar o ar e **fechar** o envelope pressionando na fechadura. Armazenar a 2/8°C.



Descrição:

Posição 8: Espaço disponível para rotular com código de barras

Posição 7: vazio

Posição 6: CAVIDADE DE MICROPLACA sensibilizada com antígeno EBNA recombinante.

Posição 5: CAVIDADE DE MICROPLACA não sensibilizada

Posição 4: TMB SUBSTRATO

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

Posição 3: DILUENTE DE AMOSTRAS

Conteúdo: Solução protéica, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para revelar a presença de soro.

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgG humanas marcados com peroxidase, em solução tampão de fosfato com fenol 0.05% e Bronidox 0.02%.

Posição 1: CAVIDADE VAZIA na qual o operador precisa dispensar o soro não diluído

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.425 mL

Conteúdo: soro humano diluído contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada**

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Conteúdo: soro humano diluído contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada**

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Equipamento Chorus / Chorus Trio
- Água destilada ou desmineralizada
- Vidraria de laboratório graduada e não.
- Micropipetas de precisão e ponteiros descartáveis de 50-200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio (5%)
- Contendedores para coleta de matérias potencialmente infecciosas

5. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8°C. Em caso de temperatura de armazenamento errada, é necessário refazer a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do soro de controle (ver item 9: validação do teste).

A data de vencimento é impressa em cada componente e no rótulo caixa.

Os reagentes tem uma validade limitada depois da abertura e/ou preparação:

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

6. PRECAUCÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Atenção:

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo nenhum teste diagnostico 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 faixas utilizadas devem ser tratados como resíduos infecciosos e portanto, eliminados em conformidade com as disposições legais aplicáveis.

Precauções de Biossegurança

1. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear as amostras e durante o teste. Lavar as mãos depois de inserir o dispositivo no equipamento CHORUS.
2. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado contém fenol
 - b) O substrato é ácido
 Em caso de contato desses reagentes com os olhos e pele, lavar abundantemente com água.
3. Ácidos neutralizados e outros descartes líquidos precisam ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para atingir uma concentração final de 1%. Deixando agir o hipoclorito por 30 minutos geralmente é suficiente para uma desinfecção válida.
4. Derramamentos de materiais potencialmente infecciosos precisam ser removidos imediatamente com manta-borrão e a área infectada deve ser limpa, por exemplo, com hipoclorito de sódio 1%, antes de continuar o trabalho. Caso esteja presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para limpeza, incluindo luvas, devem ser descartados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

Antes do uso, permitir que os dispositivos atinjam a temperatura ambiente (18-30°C); usar entre 60 minutos.

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço verifique que 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 são para uso exclusivo no equipamento Chorus; seguir rigorosamente as Instruções para Uso e o Manual do equipamento.
5. Controlar que o equipamento Chorus esteja programado corretamente (ver o Manual do Usuário Chorus).
6. Não alterar o código de barras na empunhadura do dispositivo, permitindo uma correta leitura pelo equipamento.
7. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no equipamento.
8. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
9. Amostras fortemente hemolizadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
10. Antes de inserir o dispositivo no equipamento Chorus, verificar que a cavidade de reação não contenha corpos estranhos.
11. Pipetar a amostra a ser testada (50 µl) na cavidade 1 do dispositivo (ver figura).
12. Não usar o dispositivo depois do vencimento.

7. TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

A amostra é soro, obtido de sangue coletado das veias e manuseado segundo as precauções do laboratório. O soro fresco pode ser conservado a 2/8°C por 4 dias; para períodos de tempo maiores conservá-lo a -20°C. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras. A amostra pode ser descongelada no máximo 3 vezes. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes do teste. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

Não usar amostras fortemente lipêmicas, ictericas, hemolizadas ou inquinadas.

Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir a confecção (do lado da fechadura por pressão), prender o número de dispositivos necessários para os testes e retornar os dispositivos restantes no envelope com dessecante, esvaziar do ar e fechar o envelope premendo na fechadura.
2. Controlar visualmente as condições do dispositivo em acordo com as indicações do parágrafo 6, Precauções Analíticas itens 1 e 8.
3. Dispensar na cavidade 1 de cada dispositivo 50 µl de amostra a ser testada, não diluída; por cada troca de lote, usar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no equipamento Chorus. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Uso do equipamento.

9. ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO

Usar o Soro de Controle para verificar a exatidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Uso do equipamento. No caso o equipamento apontar o Soro de Controle fora do range de aceitação, precisa calibrar o equipamento uma outra vez. Os resultados antecedentes serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controle continuar fora do intervalo de aceitação, contatar o Scientific Support.

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O equipamento Chorus fornece resultados em INDEX (relação entre o valor de D.O. da amostra em teste e aquilo do Cut-Off), e pode ser usado como medida quantitativa, sendo proporcional à quantidade das IgG específicas.

A amostra será:

Positiva: quando o Index é >1.2

Negativa: quando o Index é <0.8

Duvidosa: para todos os valores entre 0.8 e 1.2.

No caso de resultado duvidoso, repetir o teste. Se o resultado continua duvidoso, coletar uma outra amostra depois de 1-2 semanas.

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O resultado do teste pode ser usado só como guia diagnóstica e deve ser avaliado juntamente com outros testes diagnósticos.

Existe a possibilidade de reações cruzadas com anticorpos contra E.coli.

As características do produto não foram estabelecidas para uma avaliação visual, e também não forma avaliados pacientes com carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt ou outras doenças linfáticas associadas com EBV, à exceção de mononucleose EBV dependente.

Sendo os anticorpos IgG contra EBNA presentes no soro de convalescentes, a diagnose não pode ser baseada num só parâmetro. Uma diagnose escrupulosa de infecção de EBV precisa basear-se nos resultados de VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG e EA IgM e do teste para anticorpos heterofilos.

O teste pode ser realizado só com soro. Uso de sangue ou de plasma não foi avaliado.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Amostras negativa para IgG contra EBNA e VCA foram testadas para detecção de anti-CMV, anti Herpes Simplex e anti-Varicela. Em caso nenhum a presença destes anticorpos interfere no teste Enzywell EBNA IgG.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Foram avaliadas 101 amostras testadas com outro produto comercial: 92 resultaram positivas e 9 negativas com ambos os métodos. Os resultados são reportados na tabela seguinte.

		REFERÊNCIA	
		+	-
DIESSE	+	92	0
	-	0	9

O produto mostra 100% de sensibilidade (CI 95%: 96–100) e 100% de especificidade (CI 95%: 70–100).

14. PRECISÃO

Precisão no teste

	Número de repetições	Média Index	D. P.	CV%
Lot no. 024	9	2.7	0.12	4
Lot no. 025	9	2.6	0.15	6
Lot no. 026	9	3.0	0.16	5

Precisão entre testes

		DAY1		DAY2		DAY3		DAY4		DAY5				
		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX				
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	Média	D. P.	CV%
EBN1		0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2		0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3		3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

*Artefacto devido ao conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível às variações (mesmo muito pequenas) com o valor médio próximo a zero.

15. BIBLIOGRAFIA

1. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. *J. Med. Virology* 43: 238 (1994).
2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Virol. Methods* 21: 133 (1988).
3. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. *J. Inf. Dis.* 151: 984 (1985).
4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. *J. Immunol. Methods* 67: 145 (1984).



INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS EPSTEIN-BARR EBNA IgG

REF 81057

(Romana)

1. UTILIZARE RECOMANDATA

DETERMINARE CALITATIVA A ANTICORPILOR CLASA IgG- IMPOTRIVA ANTIGENUL CAPSIDEI VIRALE EPSTEIN BARR IN SERUL UMAN UTILIZAND UN DISPOZITIV DE UNICA FOLOSINTA PENTRU APLICAREA PE INSTRUMENTELE CHORUS

2. INTRODUCERE

Epstein Barr Virus (EBV) este un herpesvirus care cauzeaza mononucleoze infectioase (IM). Este de asemenea asociat cu simptomele limfoma Burkitt, carcinoma nasofaringeala si proliferativ limfatic la pacientii imunodepresivi. Virusul este raspandit in intreaga lume si 80-90% din populatie este seropozitiva.

Diagnosticul de laborator pentru IM este efectuat traditional prin detectarea anticorpilor heterofici care se dezvoltă in ser in timpul derularii infectiei si care aglutineaza eritrocitele de cal. In orice caz, acesti anticorpi pot sa nu fie mereu prezenti la pacientii afectati de IM, in particular daca sunt mai tineri de 14 ani; in plus este posibil sa persiste pentru mai mult de un an dupa infectare. Determinarea anticorpilor heterofili poate duce la diagnosticare eronata. Este prin urmare important sa se determine prezenta anticorpilor fata de antigenele virale. In particular, detectia de anticorpi condusi spre "Antigenul Viral Capsid " (VCA) si antigenul nuclear (EBNA) sunt deosebit de utile.

In timpul cursului anticorpilor IM, IgM- si IgG- spre VCA apar devreme, in timp ce IgG to EBNA se dezvoltă mai tarziu in timpul infectiei. Prezenta IgM fata de VCA in absenta IgG fata de EBNA indica faptul ca exista o infectie curenta, n timp ce prezenta IgG fata de ambii VCA si EBNA este un indicativ al infectiei anterioare.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul este bazat pe principiul ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

EBNA, obtinut prin tehnica de recombinare este legat de faza solida. Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubarea cu ser uman.

Dupa spalarea\ pentru eliminarea proteinelor care nu au reactionat, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi umani monoclonali IgG conjugati cu peroxidaza de hrean.

Conjugatul nelegat este eliminat si substratul de peroxidaza este adaugat.

Culoarea care se dezvoltă este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

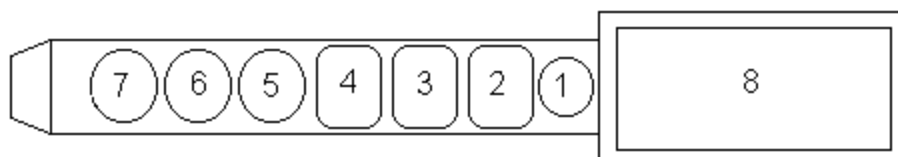
Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus .

4. COMPOZITIA TRUSEI SI PREPARAREA REACTIVILOR

Trusa este suficienta pentru 36 de teste.

DD DISPOZITIV 6 pachete fiecare continand 6 dispozitive

Utilizare: **echilibrati un pachet la temperatura camerei**, deschideti pachetul si indepartati dispozitivele necesare, lasati-le pe celelalte in punca cu silicagel, eliminati aerul si **sigiliati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.



Descrierea:

Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea pe eticheta codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEU MICROPLACI captusit cu un grup de antigeni recombinati EBV EBNA

Pozitia 5: GODEU MICROPLACI captusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: DILUANT PROBA

Continut: Solutie proteica care contina fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator care sa arate prezenta de ser.

Pozitia 2: CONJUGAT

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

Pozitia 1: GODEU GOL in care operatorul trebuie sa plaseze serul nediluat

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, la o concentratie cunoscuta de anticorpi, cu continut de Proclin and Gentamicina, **lichid gata preparat pentru utilizare.**

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, la o concentratie cunoscuta de anticorpi, cu continut de Proclin and Gentamicina, **lichid gata preparat pentru utilizare.**

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumentele Chorus / Chorus Trio
- Apa distilata sau deionizata
- Stilarie de laborator normala: cilindrii, tuburi test- etc.
- Micropipete pentru pipetare adecvata de solutie 10, 100, 1000 µl
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de hipoclorit de sodiu (5%)
- Containere pentru colectarea potentialelor materiale infectioase

5. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie sa fie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura incorecta calibrarea trebuie repetata si circuitul validat utilizand ser control (vezi punctul 9, Validarea testului) .

Data de expirare este listata pe fiecare component si pe eticheta trusei.

Reactivii au o stabilitate limitata dupa deschidere si/sau preparare:

DISPOZITIV	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATOR	8 saptamani la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 saptamani la 2/8°C

6. PRECAUTII

DOAR PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Atentionare:

Aceasta trusa contine materiale de origine umana care au fost testate si au raspuns negativ la metodele FDA aprobate in ceea ce priveste prezenta anticorpilor HbsAg si a anticorpilor anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-HCV. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi o garantie completa in privinta absentei agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manipulate ca fiind potential infectioase. Toate precautiile adoptate normal in practicile de laborator trebuie respectate in momentul manipularii materialelor de origine umana. Indepartare deseurilor: stripurile utilizate care contin materiale de origine umana trebuie considerate materiale infectioase si aruncate doar prin respectarea reglementarilor din acest domeniu. Indepartare deseurilor: stripurile utilizate care contin materiale de origine umana trebuie considerate materiale infectioase si aruncate doar prin respectarea reglementarilor din acest domeniu.

Informatii privind sanatatea si siguranta

1. Nu pipetati cu gura. Purtati manusi de unica folosinta si protectie la ochi cand manipulati speciimenele. Spalati mainile bine dupa ce asezati dispozitivele in instrumentul CHORUS.
2. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante nocive sau iritante:
 - a) Conjugatul contine fenol
 - b) Substratul este acid

Daca vreunul din reactivi intra in contact cu pielea sau ochii, spalati zona cu multa apa.

3. Acizii neutralizati si alte lichide reziduale trebuie decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru obtinerea unei concentratii finale de cel putin 1.0%. O expunere de 30 de minute la 1% hipoclorit de sodiu poate fi suficient pentru asigurarea unei decontaminari efective.
4. Scurgeri de materiale potential infectioase trebuie indepartate imediat cu servetele de hartie absorbanta iar zona contaminata curatata cu, de ex. 1.0% hipoclorit de sodiu, inainte de inceperea lucrului. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat pe scurgerile care contin acid decat daca zona scurgerii nu a fost mai intai uscata prin stergere. Materialele folosite pentru curatarea scurgerilor, inclusiv manusile, trebuie aruncate deoarece sunt deseuri potential infectioase. Nu autoclavati materialele care contin hipoclorit de sodiu.

Precautii analitice

Aduceti dispozitivele care vor fi folosite la temperatura camerei (18-30°C) inainte de utilizare; utilizati in timp de 60 min.

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. In timp de adaugati proba in godeu verificati daca este perfect distribuita pe fund.
3. Verificati prezenta reactivilor din dispozitiv si daca dispozitivul nu este deteriorat, nu utilizati dispozitive carora le lipsesc reactivii.
4. Dispozitivele se vor folosi cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie urmarite cu atentie si manualul de operare a instrumentului trebuie consultat.
5. Verificati daca instrumentul Chorus este setat in mod corect. (vezi Manualul de Operare Chorus).
6. Nu schimbati codul de bare de pe manerul dispozitivului pentru a permite citirea corecta a instrumentului.
7. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual in instrument.
8. Nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit in timpul pastrarii si utilizarii.
9. Utilizarea probelor puternic hemolizate, sau a probelor cu contaminarii microbiene, pot toate constitui surse de eroare.
10. Inainte de inserarea dispozitivelor in instrument, verificati daca godeul de reactie nu contine corpii straini.
11. Pipetati serul test (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
12. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.

7. TIPUL SI PASTRAREA PROBEI

Proba este compusa din ser colectat in maniera normala din vene si manipulat cu precizia dictate de practica de laborator. Serul proaspat poate fi pastrat pentru 4 zile la 2/8°C, sau congelat pentru mai mult timp la -20°C, si poate fi congelat-dezongelat de maximum 3 ori. Evitati folosirea frigiderelor cu auto-dezghetare pentru depozitarea probelor. Probele decongelate trebuie agitate cu atentie inainte de utilizare. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminare microbiana, care duce la rezultate eronate.

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

Testul nu poate fi aplicat plasmiei

8. PROCEDURA

1. Deschideti pachetul (pe partea care contine presiune de inchidere), indepartati numarul dispozitivelor solicitate si sigilati restul pungii dupa eliminarea aerului.
2. Verificati stadiul dispozitivelor in functie de indicatiile prezentate in avertizarile analitice, punctele 1 si 8.
3. Pipetati 50 µl de ser test nediluat in godeul no. 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare a lotului utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Puneti dispozitivele in instrumente. Efectuati calibrarea (daca este necesar) si testul conform prezentarii in Manualul de Operare Chorus

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru verificarea validitatii rezultatelor obtinute. Trebuie folosit conform Manualului de Operare. Daca instrumentul semnalizeaza ca serul de control are o valoare in afara limitei acceptabile, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate 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. INTERPRETATION OF THE RESULTS

Instrumentul Chorus exprima rezultatele ca un INDEX (raportul intre valoarea OD a testului proba si Cut-Off) care poate fi utilizat ca masura cantitativa, deoarece este proportionala cu concentratia IgG-ului specific prezent.

Serul test poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand raportul este > 1.2

NEGATIV: cand raportul este < 0.8 .

INCERT: pentru toate valorile intre 0.8 si 1.2

In cazul unui rezultat incert, repetati testul. Daca testul ramane incert, colectati o noua proba dupa 1-2 saptamani.

11. LIMITARILE PROCEDURII

Rezultatele obtinute pot fi utilizate ca ghid in diagnosticare si trebuie intotdeauna evaluate cu rezultatele altor proceduri de diagnosticare.

Exista posibilitatea unei reactii incrucisate cu probe cu continut de anticorpi anti-E. coli.

Caracteristicile de performanta nu au fost determinate pentru o interpretare vizuala si nici nu au fost evaluate la pacientii afectati de carcinoma nasofaringeala, limfom Burkitt sau alte limfadenopatii asociate cu EBV, diferite de mononucleozele EBV.

Deoarece anticorpii anti-EBNA IgG sunt prezenti in serurile convalescente normale, diagnosticul nu poate fi stabilit pe baza unui singur parametru. O interpretare corecta a infectiei EBV trebuie bazata pe rezultatele VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM, pe langa anticorpii heterofili.

Testul trebuie efectuat pe ser. Utilizarea sangelui sau plamei nu a fost stabilita.

12. SPECIFICITATE ANALITICA

Probele care au fost negative pentru anti-EBNA si anti-VCA IgG au fost testate pentru determinarea de IgG anti-CMV, anti-Herpes Simplex si anti-Varicella. In niciun caz prezenta anticorpilor nu interfereaza cu trusa Enzywell EBNA IgG.

13. SENSIBILITATE SI SPECIFICITATE

S-au testat 101 probe, a caror rezultat s-a confirmat si cu alta metoda comerciala. 92 au iesit pozitive si 9 negative, in acord intre cele doua metode. Rezultatele au fost sumarizate in tabel.

		REFERINTA	
		+	-
		92	0
CHORUS	+		
	-	0	9

Trusa arata o sensibilitate de 100% (CI 95%: 96–100) si o specificitate de 100% (CI 95%: 70–100).

14. PRECIZIE

Precizie in circuit

	Nr. replici	Mean Index	St. Dev.	CV%
Lot nr. 024	9	2.7	0.12	4
Lot nr. 025	9	2.6	0.15	6
Lot nr. 026	9	3.0	0.16	5

Precizie intre circuite

Table 1. Mean and standard deviation of the ZIU A 1 to ZIU A 5 for each EBN													
	ZIU A 1		ZIU A 2		ZIU A 3		ZIU A 4		ZIU A 5		Mean	St. Dev.	CV%
	INDEX		INDEX		INDEX		INDEX		INDEX				
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2			
EBN1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.07	35.0*
EBN2	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.08	8.0
EBN3	3.7	3.7	4.3	3.8	4.3	3.8	3.9	3.1	3.7	3.5	3.8	0.35	9.2

* Artefact produs de catre eroarea cunoscuta a Coeficientului de Variatie care devine extrem de sensibil chiar si la modificari minore in cadrul mediei, atunci cand valoarea medie este aproape de zero

15. INDEXUL SIMBOLURILOR FOLOSITE

	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 utilizzare consultati instructiunile
	Risk biologic
	Numar de catalog
	Dizpositiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Lot

16. REFERINTE

1. Andersson, V. Vetter et al. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Barr Virus serology. J. Med. Virology 43: 238 (1994).
2. J. Middeldorp and P. Herbrink: Epstein Barr Virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133 (1988).
3. Valent Sumaya: Serological testing for Epstein Barr Virus - developments in interpretation. J. Inf. Dis. 151: 984 (1985).
4. J. Luka, R.C. Chase and G. Pearson: A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145 (1984).



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italy
Tel. 0577-587111

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



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italy
Tel. 0577-587111