

CHORUS


DIESSE

Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

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

REF	81029
------------	--------------

	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	9 (IT-EN)





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2)

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Herpes simplex virus (HSV) è un membro della famiglia degli Herpesviridae del quale si conoscono due tipi: il tipo 1 (HSV-1) ed il tipo 2 (HSV-2), che si distinguono per differenze antigeniche minori. HSV-1 è responsabile principalmente di lesioni oro-facciali, mentre HSV-2 di lesioni genitali, ma questa distinzione è solo approssimativa ed entrambi i tipi possono essere responsabili di infezione in ambedue le sedi. Inoltre HSV può essere responsabile di una forma di cheratite oculare e di danni a carico del sistema nervoso centrale.

HSV colpisce virtualmente tutta la popolazione. L'infezione primaria è spesso subclinica e raramente viene diagnosticata. Dopo un periodo di latenza di durata variabile, si possono avere fenomeni di riattivazione con replicazione virale accompagnata o no da lesioni cliniche. Particolare interesse riveste l'infezione contratta alla nascita, in quanto responsabile di una considerevole morbidità e mortalità.

Può essere perciò importante la valutazione dello stato immunitario della donna durante la gravidanza al fine di rilevare una eventuale sier conversione. Il dosaggio delle IgG specifiche è importante per definire lo stato sierologico del paziente.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2), negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

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

rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu 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/Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in Index (OD campione/OD cut-off).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

Avvertenze analitiche

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

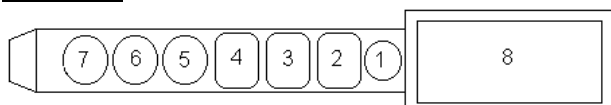
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene ricombinante HSV2, costituito dalla glicoproteina G2 ricombinante specifica per Herpes Simplex Virus Tipo 2.

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%, un indicatore per rivelare la presenza di siero ed estratti cellulari.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinatori per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei.

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 – 220 UI/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Emoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

La presenza nel siero in esame delle sostanze interferenti sopra riportate, con l'eccezione della emoglobina, non altera il risultato del test.

13. CROSS-REATTIVI

81 campioni, positivi a Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 e Toxoplasma sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 150 campioni con kit Diesse e con un altro kit in commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
	Diesse	32	4	36
	-	3	111	114
	Totale	35	115	150

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

*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.

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0

4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. BIBLIOGRAFIA

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections , 1999; 75: 168-171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L; " Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

**For the qualitative determination of IgG
antibodies anti-Herpes Simplex Virus (type 2)**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgG class antibodies to Herpes Simplex Virus (type 2) in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

The Herpes simplex virus (HSV) is a member of the Herpesviridae family, of which two types are known: type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) which present slight antigenic differences. HSV-1 causes chiefly oral-facial lesions, while HSV-2 is mainly responsible for genital lesions, but this distinction is not binding, both types occasionally causing infection in either anatomical site. HSV may also cause a form of ocular keratitis, and lesions of the central nervous system. HSV can affect practically the whole population. The primary infection is often in a subclinical form and is rarely diagnosed. After a latency period of variable duration, reactivation may occur and viral replication may or may not give rise to clinical lesions. Infection contracted during birth is of particular interest, this being an important cause of morbidity and mortality. It is therefore important to determine the immunitary state of women during pregnancy in order to detect serum conversion. The assay of specific IgG is important to establish the serological state of the patient.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant device is ready to use for the detection of IgG antibodies against Herpes Simplex Virus (type 2), in the Chorus/Chorus TRIO instruments. The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). The antigen is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted human serum.

After washing to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-human IgG monoclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase. The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added. The blue 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/Chorus TRIO instruments. The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.

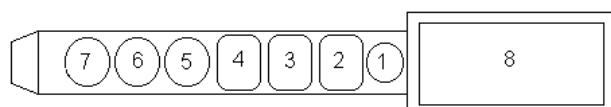
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with recombinant HSV2 antigen, composed of recombinant G2 glycoprotein specific for Herpes Simplex Virus Type 2.

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%, indicator to reveal the presence of the serum and cells extracts

Position 2: CONJUGATE

Contents: monoclonal antibodies anti-human IgG 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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Herpes Simplex Virus (type 2) and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Herpes Simplex Virus (type 2) and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

Possible consequences, in case of use of other biological liquids, are not known.

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

Heat-inactivation can rise to erroneous results.

The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

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

POSITIVE: when the result is > 1.1

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

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

11. LIMITATIONS

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

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

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

5 samples (2 Negative, 1 Cut-Off and 2 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid Factor (44 – 220 UI/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglycerides (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobin (5 mg/ml – 30 mg/ml)

The presence in the serum sample of the interfering substances described above, except for hemoglobin, does not affect the test result.

13. CROSS-REACTIONS

81 samples positive to Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 and Toxoplasma were tested.

No significant cross-reactions were found.

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 150 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	32	4	36
	-	3	111	114
	Total	35	115	150

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

* 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

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. REFERENCES

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections, 1999; 75: 168-171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus

- type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L; " Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
 5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
 6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

PRO kvalitativní STANOVENÍ IgG proti Herpes Simplex Viru (typ 2) PROTILÁTEK

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k kvalitativnímu stanovení IgG protilátek proti Herpes Simplex Viru (typ 2) v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Herpes simplex virus (HSV) patří do rodiny Herpesviridae, která čítá dva známé typy: typ 1 (HSV-1) a typ 2 (HSV-2), které se od sebe mírně antigenově liší. HSV-1 způsobuje hlavně orálně obličejové léze, zatímco HSV-2 zodpovídá převážně za genitální léze. Toto rozdělení však není závazné, oba typy způsobují občas infekci v obou anatomických oblastech. HSV může také způsobit formu oční keratitidy a léze centrálního nervového systému.

HSV může zasáhnout prakticky celou populaci. Primární infekce má často subklinickou formu a bývá zřídka diagnostikována. Po latentní době proměnlivé délky se může objevit reaktivace a replikace viru může nebo nemusí způsobit klinické léze. Zvláštní zájem je věnován infekci získané při narození, protože takto získaná infekce je významnou příčinou nemoci a úmrtnosti. Proto je důležité zjišťovat imunitní stav žen během těhotenství, aby bylo možné detekovat konverzi séra. Test specifických IgG protilátek je důležitý pro stanovení sérologického stavu pacienta.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti Herpes Simplex Viru (typ 2), v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

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

Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se provede inkubace s konjugátem složeným z anti-lidských monoklonálních IgG protilátek konjugovaných s křenovou peroxidázou. Dochází k eliminaci nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Modré zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

- Nepipetujte ústy.
- Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
- Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
- Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
- Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
- Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevrhujte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve

kterých chybí reagentie, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.

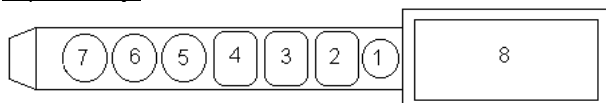
16. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
20. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
21. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
22. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonalé koagulované séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
23. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
24. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Rekombinantní HSV 2 antigen složený z rekombinantního G2 glykoproteinu specifického pro HSV2.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující 0.05% fenol, 0.02% Bronidox, indikátor ukazující na přítomnost séra a buněčného extraktu.

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 obsluha umístí neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.175 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti Herpes Simplex Viru (typ 2) a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.425 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti Herpes Simplex Viru (typ 2) a konzervační prostředek. 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.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagentie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20 °C.

Rozmrazovat se smí maximálně 3 krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazemím.

Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus/Chorus TRIO vyjadřuje výsledky formou indexu (OD vzorku/OD cut-off).

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1.1

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0.9

SPORNÝ/NEJASNE PRO VSECHNY HODNOTY MEZI 0.9 a 1.1

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

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 5 vzorků (2 negativní, 1 Cut-Off a 2 pozitivní) obsahujících následující rušivé substance.

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

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séra (s výjimkou Hemoglobinu) nezměnila výsledky testu.

13. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 81 vzorky pozitivní na Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 a Toxoplasma.

NEBYLY ZJISTENY ŽADNE VÝZNAMNÉ ZKŘÍŽENÉ REAKCE.

14. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 150 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	–	Celkem
Diesse	+	32	4	36
	–	3	111	114
	Celkem	35	115	150

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Negativní shoda v procentech (~ diagnostická specifita):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr Index	CV %	Průměr Index	CV %
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

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

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr Index	CV %	Průměr Index	CV %
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes

- Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections , 1999; 75: 168–171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
 3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
 4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L; " Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
 5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
 6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

Zur qualitativen Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen Herpes-Simplex-Virus (Typ 2)

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung von Antikörpern der Klasse IgG gegen Herpes-Simplex-Virus (Typ 2) im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

Das Herpes-Simplex-Virus (HSV) gehört zur Familie der Herpesviridae, von denen zwei Typen bekannt sind: Typ 1 (HSV-1) und Typ 2 (HSV-2), die sich durch geringfügige antigenische Differenzen voneinander unterscheiden. HSV-1 ist hauptsächlich für Läsionen an Mund und Gesicht verantwortlich, während HSV-2 genitale Läsionen hervorruft. Diese Unterscheidung ist jedoch nur annähernd, denn im Prinzip sind beide Typen in der Lage, Läsionen an beiden Körperregionen zu verursachen. Ferner kann das HSV eine Form der Keratitis und Schädigungen des Zentralen Nervensystems bewirken.

Das HSV ist praktisch in der gesamten Bevölkerung verbreitet. Die Primärinfektion verläuft oftmals subklinisch und wird nur selten diagnostiziert. Nach einer Latenzzeit unterschiedlicher Dauer kann eine Reaktivierung mit Virusreplikation auftreten, die von klinischen Läsionen begleitet sein kann aber nicht muss. Besondere Bedeutung kommt der bei der Geburt auftretenden Infektion zu, da sie zu einer erheblichen Morbidität und Mortalität führt.

Daher ist die Beurteilung des Immunzustands der Frau in der Schwangerschaft zur Erkennung einer etwaigen Serokonversion besonders wichtig. Die Dosierung der spezifischen IgG hat ihre Bedeutung in der Definition des Serostatus des Patienten.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Antikörpern der Klasse IgG gegen Herpes-Simplex-Virus (Typ 2) in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das Antigen wird an die Festphase

gebunden. In Folge der Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human-IgG Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der blauen 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/Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Index (OD-Wert Probe/OD-Wert Cut-off).

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

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

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
10. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
11. 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.
12. 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 dekontaminiert werden. Wenn eine

Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination 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.

13. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.

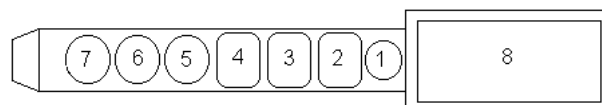
14. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
15. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
16. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
17. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
18. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
19. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
20. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
21. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
22. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koagulierte Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
23. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
24. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit HSV2-rekombinierendem Antigen, bestehend aus Glykoprotein G2 als spezifischem Recombinant für das Herpes-Simplex-Virus Typ 2.

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

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, einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst und Zellextrakten 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 diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen.

Gebrauch: Einen 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.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,175 ml

Inhalt: Verdünntes Humanserum mit IgG-Antikörpern gegen Herpes-Simplex-Virus (Typ 2) und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0,425 ml

Inhalt: Verdünntes Humanserum mit IgG-Antikörpern gegen Herpes-Simplex-Virus (Typ 2) und Konservierungsmittel. 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/Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung

- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. 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

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.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei 20 °C eingefroren.

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Eine Hitzeinaktivierung kann zu falschen Ergebnissen führen. Durch eine mikrobiische Kontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

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 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu analysierenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO 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 positive 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/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis > 1.1

NEGATIV: bei Ergebnis < 0.9

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 0.9 und 1.1

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt bzw. mehrdeutig ist. Bleibt das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig, die Probenahme wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 5 Proben (2 negative, 1 mit Cut-Off und 2 positive) getestet, denen folgende Interferenten beigefügt wurden:

Rheumafaktor (44–220 IU/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl–45 mg/dl)
Triglyceride (10 mg/dl–250 mg/dl)
Hämoglobin (5 mg/ml–30 mg/ml)

Die Präsenz der oben genannten Interferenten im untersuchten Serum hat (mit Ausnahme von Hämoglobin) keinen Einfluss auf das Testergebnis.

13. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 81 positive Proben Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 und Toxoplasma getestet. Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

14. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 150 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
	+	32	4	36
	-	3	111	114
Diesse	Insgesamt	35	115	150

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Negative Übereinstimmung: (~Diagnostische Sensitivität):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert Index	CV %	Mittelwert Index	CV %
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

*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.

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert Index	CV %	Mittelwert Index	CV %
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. LITERATUR

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections , 1999; 75: 168-171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667

4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L.; "Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG έναντι του ιού Herpes Simplex
(τύπου 2)**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG έναντι του ιού Herpes Simplex (τύπου 2) στον ανθρώπινο ορό με σερτ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός του απλού έρπητα (HSV) ανήκει στην οικογένεια των Ερπητοϊών της οποίας είναι γνωστοί δύο τύποι: ο τύπος 1 (HSV-1) και ο τύπος 2 (HSV-2), που παρουσιάζουν ελάσσονες αντιγονικές διαφορές. Ο HSV-1 προκαλεί κυρίως έλκη στόματος-προσώπου ενώ ο HSV-2 έλκη γεννητικών οργάνων, αλλά αυτή η διάκριση είναι απλά ενδεικτική γιατί και οι δύο τύποι μπορεί να γίνουν αίτιοι λοίμωξης και στις δύο περιοχές. Επιπλέον ο HSV μπορεί να προκαλέσει μία μορφή οφθαλμικής κερατίτιδας και βλάβες στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

Ο HSV θεωρητικά μπορεί να προσβάλλει όλο τον πληθυσμό. Η πρωτογενής λοίμωξη παρουσιάζει συχνά υπο-κλινικές εκδηλώσεις των οποίων σπάνια γίνεται διάγνωση. Μετά από μία λανθάνουσα περίοδο, με όχι σταθερή διάρκεια, μπορεί να παρουσιαστούν φαινόμενα επανενεργοποίησης με πολλαπλασιασμό του ιού που μπορεί να συνοδεύεται και από κλινικές εκδηλώσεις. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον δίνεται στην εκ γενετής λοίμωξη, γιατί είναι αίτιος υψηλού βαθμού νοσηρότητας και θνησιμότητας.

Γι' αυτό τον λόγο έχει μεγάλη σημασία να είναι γνωστή η ανοσολογική κατάσταση της γυναίκας κατά την εγκυμοσύνη, με σκοπό να ανιχνευθεί μια ενδεχόμενη ορομετατροπή. Το επίπεδο των ειδικών IgG είναι σημαντικό για να προσδιοριστεί η ορολογική κατάσταση του ασθενή.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σερτ Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι του ιού Herpes Simplex (τύπου 1), στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

Οι συγκεκριμένες ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό.

Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το συζυγές που αποτελείται από μονοκλωνικά ανθρώπινα αντισώματα αντι-IgG συζευγμένων με υπεροξειδάση ραφανιδίων.

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

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

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Δείκτης (Index) (DO δείγμα/DO cut-off).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε προσεκτικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σερτ μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ συμβουλευστε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμη κατόπιν αιτήματος).
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγλυθηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή

πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

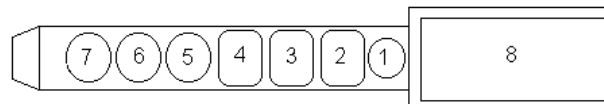
1. Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ίδιου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυπαιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
12. Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαίσθητοποιημένη με ανασυνδυασμένο αντιγόνο HSV2, που αποτελείται από την ανασυνδυασμένη γλυκοπρωτεΐνη G2 ειδική για τον ιό Herpes Simplex τύπου 2.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαίσθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

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

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

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG έναντι του ιού Herpes Simplex (τύπου 2) και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που περιέχει αντισώματα IgG έναντι του ιού Herpes Simplex (τύπου 2) και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- 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
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.

- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 µl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος δείγματος αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου. Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις από την χρησιμοποίηση άλλων βιολογικών υγρών.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C.

Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές.

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

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήστην της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

Τηλ.: 0039 0577 319554

Φαξ: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Index (DO δείγμα/DO cut-off).

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1.1

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 0.9

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 0.9 και 1.1

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβоло/ασαφές επαναλάβετε την αιμοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδιασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

12. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 5 δείγματα (2 Αρνητικά, 1 στο Cut-Off και 2 Θετικά) στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 IU/ml)

Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl -250 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml -30 mg/ml)

Η παρουσία των προαναφερθέντων παρεμβατικών ουσιών στον εξεταζόμενο ορό (με εξαίρεση την Αιμοσφαιρίνη) δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 81 δείγματα, θετικά σε Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 και Toxoplasma. Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 150 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	32	4	36
	-	3	111	114
	Σύνολο	35	115	150

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή Index	CV%	Μέση Τιμή Index	CV%
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

*Τέχνασμα οφειλόμενο στο γνωστό αποτέλεσμα της διακύμανσης του συντελεστή που καθίσταται εξαιρετικά ευαίσθητος σε αλλαγές (ακόμα και σε πολύ μικρές), όταν η τιμή των μέσων είναι κοντά στο μηδέν.

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευιών	
	Μέση Τιμή Index	CV%	Μέση Τιμή Index	CV%
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections, 1999; 75: 168-171

- Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
- Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
- Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L.; "Pre-market evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
- Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
- Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2)

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti- Herpes Simplex Virus (tipo 2) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

El Herpes Simplex Virus (HSV) es pertenece al grupo de los Herpesviridae del cual se conocen dos tipos: el tipo 1 (HSV-1) y el tipo 2 (HSV-2), que presentan ligeras diferencias antigénicas. El HSV-1 causa lesiones básicamente oro faciales, mientras que el HSV-2 es principalmente responsable de lesiones genitales. Esta distinción no obstante es sólo aproximada y ambos tipos pueden causar infecciones en ambas zonas del cuerpo. El HSV puede también causar una forma de queratitis ocular y lesiones del sistema nervioso central.

El HSV puede afectar prácticamente a toda la población. La infección primaria se presenta a menudo en una forma subclínica y es raramente diagnosticada. Después de un período de latencia de duración variable, la reactivación puede ocurrir y la réplica viral puede o no dar lugar a lesiones clínicas. La infección contraída durante el nacimiento es de especial interés, por ser una causa importante de morbilidad y de mortalidad.

Por esta razón es importante determinar el título de anticuerpos de la paciente durante el embarazo para detectar un proceso de seroconversión.

La determinación de las IgG específicas es importante para definir el estado serológico del paciente.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2), en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno. Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado,

compuesto por anticuerpos monoclonales anti-IgG humanos conjugados con peroxidasa de rábano.

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

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

El resultado se expresa en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y lo del Cut-Off).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

Poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

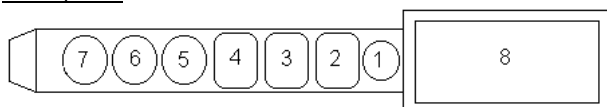
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con antígeno recombinante HSV2, glicoproteína G2 recombinante específica para Herpes Simplex Virus Tipo 2.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas, con fenol al 0.05%, Bronidox al 0.02% y un marcador para indicar la presencia de suero y extractos de células

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.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) y conservante. 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
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

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

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

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y el del Cut-Off).

La prueba del suero examinado se puede interpretar de la manera siguiente:

POSITIVO cuando el resultado es > 1.1

NEGATIVO cuando el resultado es < 0.9

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 0.9 y 1.1
En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

11. LIMITACIONES

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

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

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

5 muestras (2 Negativas, 1 de Cut-Off y 2 Positivas) fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (44 - 220 IU/ml)

Bilirrubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglicéridos (10 mg/dl - 250 mg/dl)

Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

La presencia en el suero de las sustancias interferentes antes mencionadas (con la excepción de la Hemoglobina) no afecta el resultado del test.

13. REACCIONES CRUZADAS

81 muestras, positivas en Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 y Toxoplasma fueron testadas.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 150 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	32	4	36
	-	3	111	114
	Total	35	115	150

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

* 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.

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections , 1999; 75: 168-171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L; " Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

Pour la détermination qualitative des anticorps IgG anti-Herpes Simplex Virus (type 2)

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps de classe IgG anti-Herpes Simplex Virus (type 2) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Le virus de l'Herpes Simplex (HSV) fait partie de la famille des Herpesviridae, dont on connaît deux types : le type I (HSV-1) et le type II (HSV-2), qu'on peut distinguer par quelques différences antigéniques mineures. L'HSV-1 est responsable surtout des lésions oral-faciales, alors que l'HSV-2 cause les lésions génitales, mais cette distinction est seulement approximative, et chaque type peut provoquer l'infection des deux localisations. De plus, HSV peut causer une forme de kératite oculaire et les lésions du système nerveux centrale. L'HSV peut frapper virtuellement toute la population. L'infection primaire est présente souvent en forme sub-clinique et rarement on la diagnostique. Après une période de latence de durée variable, des phénomènes de réactivation se produisent avec la réplication virale, associée parfois à des lésions cliniques. L'infection contractée pendant la naissance est responsable d'une morbidité et d'une mortalité significative. L'évaluation de l'état immunitaire de la femme pendant la grossesse peut être importante à la fin de relever une éventuelle séroconversion. Le dosage des IgG spécifiques est important pour définir l'état sérologique du patient.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-Herpes Simplex Virus (type 2), dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

En le faisant incubé avec du sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humaines conjugués à de la peroxydase

de raifort. Le conjugué qui ne s'est pas lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

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

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

Le résultat est exprimé en Indice – rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour la recherche de HBsAg que pour la recherche des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériau d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

Mise au rebut des résidus : les échantillons de sérum, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

13. Ne pas pipeter avec la bouche.
14. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
15. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO.
16. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
17. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
18. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre

en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+ 18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

25. Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.

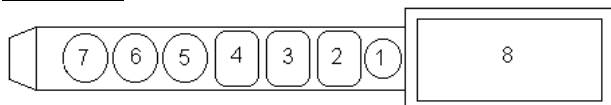
26. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
27. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
28. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
29. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
30. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
31. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
32. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
33. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
34. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum non complètement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
35. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
36. **Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description :



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec antigène recombinant HSV2, constitué de la glycoprotéine G2 recombinante spécifique pour virus Herpes Simplex de type 2.

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine (à 0.26 mg/ml) et H₂O₂ à 0.01% stabilisés dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH 3.8).

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution protéique contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox, un indicateur pour révéler la présence du sérum et des extraits cellulaires.

Position 2 : CONJUGUÉ

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.

Emploi : équilibrer un sachet à température ambiante,

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.175 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-Herpes Simplex Virus (type 2) et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG anti-Herpes Simplex Virus (type 2) et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

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

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à + 2-8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au sérum de contrôle (voir paragraphe 9 : Validation du test).

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

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation:

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé conformément aux procédures standard de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20 °C.

L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations.

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

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

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

8. PROCÉDURE

- Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
- Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits n°. 1 de chaque dispositif à analyser ; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
- Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

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

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

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en Indice (rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off).

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

POSITIF quand le résultat est > 1.1

NÉGATIF quand le résultat est < 0.9

DOUTEUX/EQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 0.9 et 1.1

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

11. LIMITES DU TEST

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

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

12. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

5 échantillons ont été testés (2 négatifs, 1 cut-off et 2 positifs), auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés:

Facteur rhumatoïde (44 – 220 IU/ml)

Bilirubine (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Triglycérides (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Hémoglobine (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

13. RÉACTIONS CROISÉES

81 échantillons positifs aux Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 et Toxoplasma ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

14. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 150 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Les données de l'essai sont schématisées ci-après:

		Référence		
Diesse	+	+	-	Total
	-	3	111	114
	Total	35	115	150

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :
91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :
96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

disease clinics"; Sexual Transmission Diseases,
2001; 28: 99-104

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne Index	CV %	Moyenne Index	CV %
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

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

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne Index	CV %	Moyenne Index	CV %
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. BIBLIOGRAPHIE

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections, 1999; 75: 168-171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L.; "Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted



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





INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

Para a determinação qualitativa dos anticorpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2)

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa dos anticorpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O vírus da Herpes simplex (HSV) é membro da família dos Herpesviridae, e se conhecem dois tipos: tipo 1 (HSV-1) e tipo 2 (HSV-2), os quais apresentam pequenas diferenças antigênicas. HSV-1 é primariamente responsável pelas lesões orofaciais, enquanto HSV-2 pelas lesões genitais, mas esta diferenciação é só indicativa, e os dois tipos podem ser responsáveis de infecções nos dois lugares. Além disso, HSV pode ser responsável por uma forma de queratite ocular e por lesões do sistema nervoso central.

HSV pode, virtualmente, infectar toda a população. Muitas vezes, a infecção primária é sub-clínica e raramente é diagnosticada. Depois de um período de latência de duração variável, podem ocorrer reativações, com replicação viral e lesões clínicas. A infecção contraída ao nascimento tem interesses especiais, sendo responsável por uma elevada morbidade e mortalidade.

Portanto, pode ser importante avaliar a situação imunitária das mulheres durante a gravidez para identificar uma possível soroconversão.

A dosagem de IgG específicos é importante para definir o estado serológico do doente.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2), nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-IgG humanos conjugados com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-se o substrato

para a peroxidase. A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro analisado.

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

O resultado é expresso em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

Advertências analíticas

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

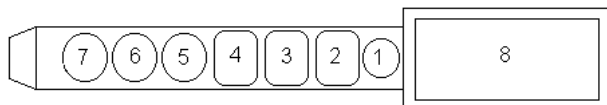
1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentem corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
12. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com antígeno recombinante HSV2, constituído por glicoproteína G2 recombinante específica para Vírus Herpes Simplex Tipo 2.

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica, com fenol 0.05%, Bronidox 0.02%, um indicador para detectar a presença de soro e extractos celulares.

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: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG anti-Herpes Simplex Virus (tipo 2) e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- 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
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

A inativação de calor pode levar a resultados errados. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações no Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 1.1

NEGATIVO quando o resultado for < 0.9

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 0.9 e 1.1

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao mesmo paciente.

O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras (2 Negativos, 1 Cut-Off e 2 Positivos) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44 – 220 IU/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

A presença, no soro em análise, das substâncias interferentes acima referidas (com a exceção de Hemoglobina) não altera o resultado do teste.

13. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 81 amostras, positivas em Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 e Toxoplasma. Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 150 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	32	4	36
	-	3	111	114
	Total	35	115	150

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaio	
	Média Index	CV%	Média Index	CV%
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

*Artefacto devido ao conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível a variações (mesmo muito pequenas) quando o valor da média está próximo de zero.

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média Index	CV%	Média Index	CV%
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. BIBLIOGRAFIA

- Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections, 1999; 75: 168-171
- Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
- Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
- Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L; " Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
- Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
- Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Herpes Simplex 2 IgG Recombinant

**Pentru determinarea calitativa a anticorpilor IgG
anti-Virus Herpes Simplex (tipul 2)**

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea calitativa a anticorpilor de clasa IgG anti-Virus Herpes Simplex (tipul 2) in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Virusul Herpes Simplex (HSV) este membru al familiei Herpesviridae, din care sunt cunoscute doua tipuri: tipul 1 (HSV-1) si tipul 2 (HSV-2) care prezinta usoare diferente antigenice. HSV-1 cauzeaza in special leziuni oro-faciale, in timp ce HSV-2 este responsabil in principal pentru leziuni genitale, dar aceasta deosebire nu este obligatorie, ambele tipuri cauzand ocazional infectii in alte zone anatomice. HSV poate de asemenea cauza o forma de cheratita oculara, si leziuni ale sistemului nervos central.

HSV poate afecta practic intreaga populatie. Infectia primara este adesea sub forma subclinica si rareori este diagnosticata. Dupa o perioada de latentă de durată variabilă, reactivarea poate apărea iar replica virală poate sau nu să dea naștere leziunilor clinice. Infectia contractata in timpul nasterii este deosebit de importanta, acesta fiind o cauza importanta de morbiditate si mortalitate. Este prin urmare important sa se determine starea de imunitate a femeii in timpul sarcinii pentru detectarea seroconversiei. Testul specific IgG este important pentru a stabili starea serologica a pacientului.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Herpes Simplex 2 IgG Recombinant este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgG impotriva Virusului Herpes Simplex (tipul 2), pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). Antigenul este legat de faza solida. Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubarea cu serul uman diluat. Dupa spalările efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi monoclonali anti-umani IgG conjugate cu peroxidaza din hrean. Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza. Culoarea albastra care se dezvolta este

proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru.

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

Rezultatele sunt exprimate in Index (OD proba/OD cut-off).

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrării specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/Chorus TRIO.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

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

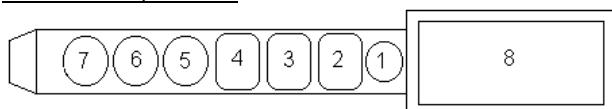
1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
9. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
10. Folosirea probelor accentuat hemolizate, lipemice, icterice, din seruri necoagulate complet sau din probe care prezinta contaminare microbiana, pot constitui toate surse de eroare.
11. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
12. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari.

DD DISPOZITIVE 6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive.

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu antigen recombinat HSV2, compus din glicoproteina G2 recombinata specifica pentru Virusul Herpes Simplex Tipul 2.

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Solutie proteica continand fenol 0.05%, Bronidox 0.02%, indicator pentru a demonstra prezenta serului si extractele de celule.

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 introduca serul nediluat

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Continut: Ser uman diluat continand IgG anticorpi anti-Virus Herpes Simplex (tipul 2) si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 ml

Continut: Ser uman diluat continand IgG anticorpi anti-Virus Herpes Simplex (tipul 2) si conservant. In forma lichida, gata de 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
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlărie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

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

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

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

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

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

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

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

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

8. PROCEDURA ANALIZEI

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

9. VALIDAREA TESTULUI

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

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in Index (OD proba/OD cut-off).

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

POZITIV: cand rezultatul este > 1.1

NEGATIV: cand rezultatul este < 0.9

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 0.9 si 1.1

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

11. LIMITARI

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

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

12. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 5 probe (2 negative, 1 Cut-Off si 2 pozitive) continand urmatoarele substante interferente:

Factor Reumatoid (44 – 220 IU/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Trigliceride (10 mg/dl – 250 mg/dl)

Hemoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

13. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 81 probe pozitive la: Rubella, Epstein-Barr Virus, Varicella, Cytomegalovirus, HSV 1 si Toxoplasma.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

14. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 150 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	32	4	36
	-	3	111	114
	Total	35	115	150

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului):

91.4% CI_{95%}: 77.4-97.7

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului):

96.5% CI_{95%}: 91.4-98.6

15. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media	CV%	Media	CV%

	Index		Index	
1	0.3	26.7*	0.4	15.0
2	0.6	15.0	0.8	12.5
3	0.9	13.3	1.0	7.0
4	1.5	8.7	1.6	13.5
5	2.8	4.3	2.8	7.9
6	3.7	4.1	3.6	8.1
7	5.1	6.3	4.9	6.3
8	6.2	7.6	6.4	8.6
9	7.6	4.9	7.8	4.5

* 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.

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.5	12.0	0.5	12.0
2	0.7	-	0.7	-
3	1.1	5.5	1.0	6.0
4	1.7	3.5	1.7	-
5	2.9	2.1	2.9	2.1
6	3.6	1.7	3.6	-
7	4.7	2.1	4.7	2.1
8	6.0	3.5	6.0	1.0
9	7.8	3.2	7.7	0.8

16. BIBLIOGRAFIE

1. Arvaja M., Lehtinen M., Koskela P., Lappalainen M., Paavonen J., Vesikari T.; "Serological evaluation of Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 infections in pregnancy"; Sexual Transmission Infections , 1999; 75: 168-171
2. Ashley R.L. et al.; "Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology"; Clinical of Microbiology Review, 1999; 12: 1-8
3. Ashley R.L., et al.; "Comparison of Western blot (immunoblot) and glycoprotein G-specific immunoblot assay for detecting antibodies to Herpes Simplex Virus type 1 and 2 in human sera"; Journal of Clinical Microbiology, 1988; 26: 662-667
4. Ashley R.L., Wu L., Pickering J.W., Tu M.C., Schonorenberg L; " Premarket evaluation of commercial glycoprotein G-based enzyme immunoassay for Herpes Simplex Virus type-specific antibodies"; Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 294-295
5. Hashido M., Lee F. K., Inouye S., Kawana T.; "Detection of Herpes Simplex Virus type-specific antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Glycoprotein G"; Journal of Medical Virology, 1997; 53: 319-323
6. Whittington W.L., Celum C.L., Cent A., Ashley R.L.; "Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to Herpes Simplex Virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics"; Sexual Transmission Diseases, 2001; 28: 99-104



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



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