



CHORUS

TREPONEMA IgG

REF 81050

REF 81050/12

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
 DIESSE Diagnostica Senese
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA) - Italy

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	4



INDICE / INDEX/ ÍNDICE

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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS TREPONEMA IgG

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DEGLI ANTICORPI IgG ANTI TREPONEMA PALLIDUM NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS.

2. INTRODUZIONE

La diagnosi sierologica della Sifilide si effettua stabilendo se ci sono nel siero del paziente anticorpi, specifici per il Treponema pallidum.

Il metodo di riferimento è l'FTA-ABS che consente di rivelare sia le IgG che le IgM. Poiché l'esecuzione è laboriosa e l'interpretazione del test non è agevole, si sono trovati metodi alternativi in grado di semplificare la procedura. L'ELISA fornisce risultati riproducibili e specifici in completa automazione e per questo motivo è proposta da molti utilizzatori. Molto importante risulta il dosaggio specifico delle IgM divise dalle IgG in quanto aiuta nella diagnosi di Sifilide congenita.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Un pool di antigeni del T. pallidum ottenuti con tecnica ricombinante in E. coli viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgG umane marcati con perossidasi.

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

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

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

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81050).

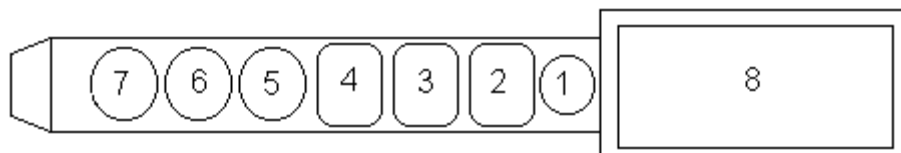
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81050/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81050).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81050/12).

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



Descrizione:

Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA sensibilizzato con pool di antigeni del T. pallidum

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA non sensibilizzato

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica, contenente fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% e un indicatore per rivelare la presenza di siero

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO dove l'utilizzatore deve dispensare il siero indiluito

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

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

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

La data di scadenza è stampata sull'etichetta del dispositivo.

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

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

6. PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS.
2. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato contiene fenolo
 - b) Il substrato è acido
 Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
3. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.

4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento
5. Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
8. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
9. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
10. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
11. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
12. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio. Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C. Evitare l'uso di congelatori autosbrinatori per la conservazione dei campioni. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Dopo scongelamento agitare con cura prima del dosaggio. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati errati.

Campioni fortemente lipemici, itterici, emolizzati o inquinati non dovrebbero essere utilizzati. Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prendere il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 6 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero indiluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo Strumento Chorus fornisce il risultato in INDEX (rapporto fra il valore della D.O. del campione in esame e quello del Cut-off) che può essere impiegato come una misura quantitativa essendo proporzionale alla quantità di IgG specifiche.

Il campione risulterà:

Negativo: quando il risultato è < 0.8 .

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

Positivo: quando il risultato è > 1.2 .

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Sieri prelevati durante la fase acuta dell'infezione, quando sono presenti solamente anticorpi della classe IgM, potrebbero risultare negativi con questa tecnica.

Il livello delle IgM anti-Treponema pallidum dovrebbe essere determinato usando il kit Chorus Treponema pallidum IgM. Alternativamente, si analizzerà un secondo campione prelevato 8-14 giorni più tardi, per verificare un eventuale aumento delle IgG.

Il risultato del test deve essere comunque valutato insieme a dati provenienti da altre indagini diagnostiche. Esiste la possibilità di reazioni incrociate nei campioni contenenti anticorpi anti-E. coli.

12. SPECIFICITÀ ANALITICA

Sono stati testati 25 sieri di pazienti contenenti anticorpi anti-Borrelia burgdorferi, 12 contenenti anticorpi anti-nucleo (ANA), 12 contenenti anticorpi anti-Epstein Barr Virus. Gli stessi campioni sono stati testati con due altri kit del commercio. In un solo campione (EBV) si è avuta reazione positiva riscontrata in uno dei 2 kit del commercio utilizzati.

13. SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA

In una sperimentazione, sono stati analizzati 209 campioni provenienti da sieroteca; per confronto è stato usato un altro metodo immunoenzimatico del commercio ed i campioni discordanti sono stati controllati con un kit Syphilis Screen Recombinant (ref. 91100 Diesse).

I risultati sono riassunti nella tabella seguente:

		RIFERIMENTO	
		+	-
CHORUS	+	43	1
	-	1	164

Il kit ha una sensibilità del 98% (CI 95%: 88–100) ed una specificità del 99% (CI 95%: 97–100).

14. PRECISIONE

Precisione all'interno della seduta

	No. di repliche	Media Index	Dev. St.	CV%
Lotto no. 018	6	2.5	0.28	11
Lotto no. 021	9	2.9	0.35	12
Lotto no. 022	9	3.3	0.24	7

Precisione tra sedute e tra lotti

Campione	Media Index			Media	Dev. St.	CV%
	Lotto 018	Lotto 021	Lotto 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.

4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. *J. Clin. Microbiol.* 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. *J. Clin. Microbiol.* 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. *J. Gen. Microbiol.* 133: 1805 (1987)



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS TREPONEMA IgG

(English)

1. INTENDED USE

QUALITATIVE DETERMINATION OF IgG-CLASS ANTIBODIES TO TREPONEMA PALLIDUM IN HUMAN SERUM, USING A DISPOSABLE DEVICE APPLIED ON THE CHORUS INSTRUMENTS

2. INTRODUCTION

The serological diagnosis of Syphilis is performed by demonstrating the presence of significant levels of specific Treponema pallidum antibodies in the serum sample.

The reference method used is the FTA-ABS technique which allows the detection of both IgG and IgM. However, its execution is laborious and the interpretation of the results is not simple; alternative methods have therefore been introduced to simplify the procedure. ELISA gives completely automated, reproducible and specific results, and for this reason is favoured by many operators.

The specific assay of IgM as opposed to IgG is of particular importance in the diagnosis of congenital Syphilis.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay). A pool of recombinant T. pallidum antigens obtained in E. coli is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with dilute human serum.

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

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

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

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

4. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81050).

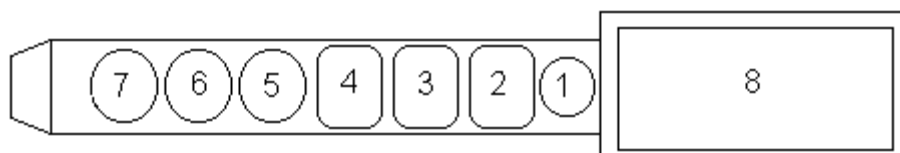
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81050/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 81050).

2 packages each containing 6 devices (REF 81050/12).

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



Description:

Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: empty

Position 6: MICROPLATE WELL coated with a pool of T. pallidum antigens

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

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

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

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

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

6. PRECAUTIONS

ONLY FOR DIAGNOSTIC USE IN VITRO.

Attention:

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

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instrument.
2. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate contains phenol
 - b) The substrate is acid
 If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.
3. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.

4. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
5. Check that the Chorus instrument is set up correctly (see Chorus Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument
7. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
8. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
9. The use of strongly hemolyzed samples, or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
10. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
11. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
12. Do not use the device after the expiry date

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples should be avoided.

The test cannot be applied to plasma.

8. PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in the Analytical Warnings points 1 and 8.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus instrument expresses the result as an INDEX (ratio between the OD value of the test sample and that of the Cut-Off) which can be used as a quantitative measure, as it is proportional to the amount of specific IgG present.

The test serum can be interpreted as follows:

NEGATIVE: when the result is < 0.8

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the result is between 0.8 and 1.2.

POSITIVE: when the ratio is > 1.2

In the case of a doubtful/equivocal result, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, take a new sample.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

A serum sample obtained during the acute phase of infection, when only IgM antibodies are present, may be negative by this procedure.

The Syphilis IgM level should be determined using the Syphilis IgM kit (REF 81051). Alternatively, a second serum sample obtained 8-14 days later, should be tested in parallel to determine an increase in the IgG antibody level.

The test result should be used in conjunction with information available from the evaluation of the case history or other diagnostic procedures.

There is a possibility of cross-reactions in samples containing anti-E. coli antibodies.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

25 serum samples containing antibodies anti-Borrelia burgdorferi, 12 containing anti-nuclear antibodies (ANA), 12 containing anti-EBV antibodies were tested. The same samples were tested with two other commercial methods. Only one sample (EBV) gave a positive reaction in one of the other 2 commercial methods.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

209 samples from a serum collection were tested. Another immunoenzymatic method was used for comparative purposes; discordant samples were tested with a Syphilis Screen Recombinant kit (ref. 91100 Diesse).

The results are summarized in the following table.

		REFERENCE	
		+	-
+		43	1
DIESSE -		1	164

The kit shows a sensitivity of 98% (CI 95%: 88–100) and a specificity of 99% (CI 95%: 97–100).

14. PRECISION

Within-run precision

	No. of replicates	Mean Index	St. Dev.	CV%
Lot no. 018	6	2.5	0.28	11
Lot no. 021	9	2.9	0.35	12
Lot no. 022	9	3.3	0.24	7

Between-run precision and Precision between batches

Sample	Mean Index			Mean	St. Dev.	CV%
	Lot 018	Lot 021	Lot 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of Treponema pallidum Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of Treponema pallidum. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS TREPONEMA IgG

1. ÚČEL POUŽITÍ

KVALITATIVNÍ STANOVENÍ PROTILÁTEK IgG PROTI TREPONEMA PALLIDUM V LIDSKÉM SÉRU POMOCÍ JEDNORÁZOVÉHO NÁSTROJE PRO ZAŘÍZENÍ CHORUS.

2. ÚVOD

Sérologická diagnostika syfilidy spočívá ve stanovení přítomnosti specifických protilátek proti bakterii *Treponema pallidum* v séru pacienta.

Referenční metodou je test FTA-Abs, který odhalí přítomnost protilátek IgG i IgM. Vzhledem k tomu, že provedení tohoto testu je velmi pracné a interpretace výsledků není snadná, vznikly alternativní metody, které nabízejí zjednodušený postup. Metoda ELISA umožňuje při plné automatizaci získat reprodukovatelné a specifické výsledky, a proto je velmi rozšířená.

Velmi důležitý je specifický poměr IgM ku IgG, který pomáhá diagnostikovat vrozenou syfilidu.

3. PRINCIP METODY

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

Pool protilátek proti *T. pallidum* získaných rekombinantní technikou v *E. coli* se váže na pevnou fázi. Během inkubace se zředěným lidským sérem se na antigen vážou specifické imunoglobuliny.

Po vymytí za účelem odstranění proteinů, které nezareagovaly, se provádí inkubace s konjugátem složeným z monoklonálních anti-IgG protilátek označených peroxidázou.

Dochází k eliminaci nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Intenzita zabarvení, které vznikne, je přímo úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných ve zkoumaném séru.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus.

4. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava stačí na 36 testů (REF 81050).

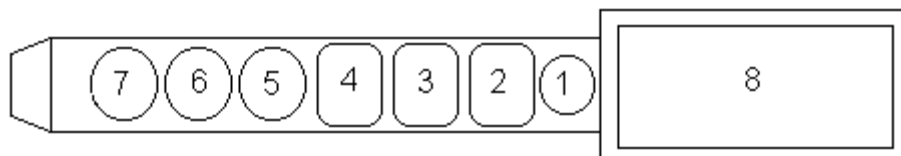
Souprava stačí na 12 testů (REF 81050/12).

DD NÁSTROJ

6 balení po 6 nástrojích (REF 81050).

2 balení po 6 nástrojích (REF 81050/12).

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



Popis:

Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA senzitivovaná s poolem protilátek proti *T. pallidum*

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

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

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: Proteický roztok obsahující fenol 0.05 %, Bronidox 0.02 % a indikátor signalizující přítomnost séra

Pozice 2: KONJUGÁT

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

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM 1 x 0.425 mL

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

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Po otevření nebo přípravě mají reagencie omezenou stabilitu:

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

6. UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Pozor:

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi. Likvidace odpadu: S použitými nástroji obsahujícími materiál lidského původu je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat tak, jak je v tomto případě vyžadováno.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

5. Nepipetujte ústy. Při nakládání se vzorky mějte vždy nasazené jednorázové rukavice a ochranu očí. Po umístění nástrojů do zařízení CHORUS si vždy důkladně umyjte ruce.
6. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých substancí:
 - c) konjugát obsahuje fenol,
 - d) substrát je kyselina.
 Přijde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
7. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1.0%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
8. Rozlité potenciálně infekční materiály je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1.0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve ořetením vysušit. Materiály

použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiály obsahující chlornan sodný nekládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

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

7. TYP A SKLADOVÁNÍ VZORKU

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

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

Test není možné aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, jej opět uzavřete.
2. Podle instrukcí pod body 1 a 8 uvedenými v Opatřeních pro správné provedení testu zkontrolujte stav nástroje.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Nástroje umístěte do zařízení Chorus a proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle Návodu na obsluhu zařízení Chorus.

9. POTVRZENÍ TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.2.

NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.8.

SPORNÝ/NEJASNÝ: pro všechny hodnoty mezi 0.8 a 1.2.

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

11. OMEZENÍ PROCEDURY

Vzorky séra získané v průběhu akutní fáze infekce, kdy jsou přítomny pouze protilátky třídy IgM, mohou při použití této techniky vyjít jako negativní.

Pro stanovení IgM protilátek proti *Treponema pallidum* použijte soupravu Chorus *Treponema pallidum* IgM. Alternativně je možné testovat druhý vzorek odebraný o 8–14 dní později, za účelem zjištění případného nárůstu množství IgG protilátek.

Výsledky testu je však vždy nutné vyhodnocovat v kontextu informací získaných prostřednictvím jiných diagnostických postupů. Ve vzorcích obsahujících protilátky proti *E. coli* může dojít ke křížovým reakcím.

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Bylo testováno 25 sér pacientů obsahujících protilátky proti *Borrelia burgdorferi*, 12 sér pacientů obsahujících antinukleární protilátky (ANA), 12 sér pacientů obsahujících protilátky proti viru Epstein-Barrové. Stejně vzorky byly testovány pomocí dvou dalších komerčních souprav. Pouze jeden ze vzorků (EBV) vykázal pozitivní reakci při použití jedné z komerčních souprav.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFICITA

V experimentu bylo analyzováno 209 vzorků pocházejících ze sérové banky; pro srovnání byla použita jiná komerční imunoenzymatická metoda a rozporné vzorky byly kontrolovány pomocí soupravy Syphilis Screen Recombinant (ref. 91100 Diesse).

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		REFERENCE	
		+	-
CHORUS	+	43	1
	-	1	164

Souprava vykazuje 98% citlivost (CI 95%: 88–100) a specificitu také 99% (CI 95%: 97–100).

14. PŘESNOST

Přesnost v rámci měření

	Počet replikátů	Střední index	Stand. odchylka	CV%
Šarže č. 018	6	2.5	0.28	11
Šarže č. 021	9	2.9	0.35	12
Šarže č. 022	9	3.3	0.24	7

Přesnost mezi měřeními a šaržemi

Vzorek	Střední index			Střední	Stand. odchylka	CV%
	Šarže č. 018	Šarže č. 021	Šarže č. 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. POUŽITÁ LITERATURA

- G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
- S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
- L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
- M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
- M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS TREPONEMA IgG

(Deutsch)

1. VERWENDUNGSZWECK

QUALITATIVE BESTIMMUNG DER ANTI-TREPONEMA PALLIDUM-IgG-ANTIKÖRPER IM HUMANSERUM MIT EINEM EINWEG-TESTMODUL, DAS IN KOMBINATION MIT CHORUS LABORANALYSATOREN VERWENDET WIRD.

2. EINLEITUNG

Die serologische Diagnostik der Syphilis wird durchgeführt, um festzustellen, ob im Serum des Patienten spezifische Antikörper für Treponema pallidum vorhanden sind.

Die Referenzmethode ist der FTA-Abs-Test, mit dem sowohl die IgG- als auch die IgM-Antikörper nachgewiesen werden können. Da die Ausführung aufwändig und die Interpretation des Tests nicht einfach ist, wurden alternative Methoden gefunden, die das Verfahren vereinfachen. Die ELISA-Methode liefert vollkommen automatisch wiederholbare und spezifische Ergebnisse und wird daher von vielen Anwendern empfohlen.

Als wichtig erweist sich die quantitative Bestimmung der von den IgG getrennten IgM-Antikörpern, da dies für die Diagnose der kongenitalen Syphilis hilfreich ist.

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Ein Pool von T. pallidum-Antigenen, die mit einer rekombinanten Technik in E. coli gewonnen werden, wird an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen.

Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Peroxidase-markierten monoklonalen Anti-human-IgG-Antikörpern.

Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

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

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

4. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF 81050).

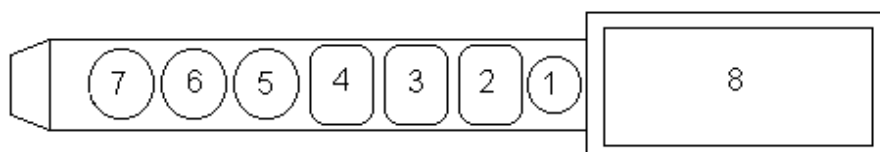
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF 81050/12).

DD TESTMODULE

6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81050).

2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81050/12).

Verwendung: 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.



Beschreibung:

Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG, die mit einem Pool aus *T. pallidum*-Antigenen sensibilisiert wurde

Position 5: nicht sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: 0,26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01 % H₂O₂, stabilisiert in Citratpuffer (0.05 mol/l, pH 3.8)

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

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

Position 2: KONJUGAT

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

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.425 mL

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

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- 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

5. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

Das Verfalldatum steht auf dem Etikett auf dem Testmodul.

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

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

6. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

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

Warnhinweise zur Analyse

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

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

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

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

Stark lipämische, ikterische, hämolytische oder kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden. Der Test ist nicht bei humanem Plasma anwendbar.

8. VORGEHENSWEISE

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

9. TESTVALIDITÄT

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

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

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

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

Die Probe ist:

Negativ: bei Ergebnis <0.8

Grauzone/Mehrdeutig: bei Ergebnis zwischen 0.8 und 1.2

Positiv: bei Ergebnis >1.2

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

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Seren, die während der akuten Infektionsphase entnommen werden, solange nur die Antikörper der Klasse IgM vorhanden sind, könnten mit dieser Technik negativ resultieren.

Die Menge der Anti-Treponema pallidum-IgM-Antikörper sollte mit dem Testsatz Chorus Treponema pallidum IgM bestimmt werden. Als Alternative dazu kann eine 8–14 Tage später entnommene zweite Probe analysiert werden, um zu prüfen, ob die IgG-Antikörper angestiegen sind.

Das Testergebnis muss in jedem Fall zusammen mit den Daten anderer diagnostischer Untersuchungen beurteilt werden. Es besteht die Möglichkeit von Kreuzreaktionen bei Proben, die Anti-E. coli-Antikörper enthalten.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 25 Seren von Patienten getestet, die Anti-Borrelia burgdorferi-Antikörper enthielten, 12 mit antinukleären Antikörpern (ANA) und 12 mit Anti-Epstein-Barr-Virus-Antikörpern. Dieselben Proben wurden mit zwei anderen im Handel erhältlichen Testsätzen getestet. Bei nur einer Probe (EBV) kam es zu einer positiven Reaktion. Sie ist bei einem der 2 im Handel erhältlichen Testsätzen aufgetreten.

13. DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Bei einem Versuch wurden 209 Proben aus der Serothek analysiert; zum Vergleich wurde ein anders, im Handel erhältliches Enzymimmunoassay-Verfahren verwendet und die nicht übereinstimmenden Proben wurden mit dem Testsatz Syphilis Screen Recombinant (REF 91100 Diesse) kontrolliert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

		REFERENZ	
		+	-
CHORUS	+	43	1
	-	1	164

Die Sensitivität des Testsatzes beträgt 98 % (CI 95 %: 88–100) und die Spezifität 99 % (CI 95 %: 97–100).

14. PRÄZISION

Präzision innerhalb eines Durchlaufs

	Anzahl der Parallelproben	Mittelwert Index	St.-Testm.	CV %
Chargenr. 018	6	2.5	0.28	11
Chargenr. 021	9	2.9	0.35	12
Chargenr. 022	9	3.3	0.24	7

Präzision zwischen Durchläufen und Chargen

Probe	Mittelwert Index			Mittelwert	St.-Testm.	CV %
	Charge 018	Charge 021	Charge 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. LITERATUR

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS IgG ΣΥΦΙΛΗΣ

(Ελληνικά)

1. ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ IgG ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΩΧΡΟΥ ΤΡΗΠΟΝΗΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΜΕ ΣΕΤ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗ ΣΥΣΚΕΥΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ CHORUS

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ορολογική διάγνωση της Σύφιλης γίνεται με την διαπίστωση ύπαρξης ειδικών αντισωμάτων κατά του ωχρού Τρηπώνηματος, στον ορό του ασθενή.

Η μέθοδος αναφοράς είναι η FTA-ABS που επιτρέπει την ανίχνευση τόσο των IgG όσο και των IgM. Επειδή η εκτέλεση είναι δύσκολη και επίπονη και η ερμηνεία του τεστ όχι τόσο απλή, επινοήθηκαν εναλλακτικές μέθοδοι για την απλοποίηση της διαδικασίας. Η ELISA παρέχει πλήρως αυτοματοποιημένα αποτελέσματα που είναι δυνατόν να αναπαραχθούν και γι' αυτό τον λόγο προτείνεται από πολλούς χρήστες.

Σημαντική αποδεικνύεται η ειδική ανάλυση των IgM απομονωμένων από τα IgG γιατί βοηθάει στην διάγνωση της συγγενούς Σύφιλης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Μια ομάδα ανασυνδυασμένων αντιγόνων του ωχρού Τρηπώνηματος, που έχουν παραχθεί με στο E. Coli, συνδέεται με τη στερεά φάση. Μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό, οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο.

Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι IgG συζευγμένα με υπεροξειδάση.

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

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

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

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81050).

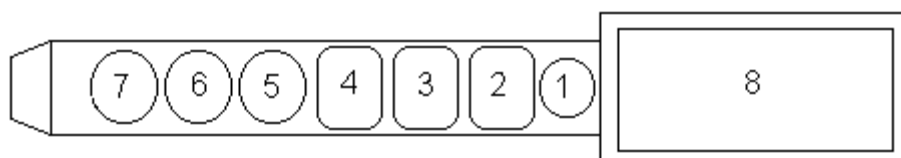
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81050/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81050).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81050/12).

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



Περιγραφή:

Θέση 8: Χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: άδεια

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ ευαισθητοποιημένη με ομάδα αντιγόνων του ωχρού Τριπονήματος.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

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

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

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

5. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό ελέγχου (βλ. κεφ. 9 Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε σετ και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

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

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

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Προσοχή:

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

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

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μετά από κάθε τοποθέτηση των σετ στο CHORUS.
2. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - α) το συζυγές περιέχει φαινόλη
 - β) το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
3. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
4. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η επιφάνεια να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την διαδικασία ανάλυσης. Αν τα υγρά περιείχαν ένα οξύ, τότε στεγνώστε πολύ καλά την επιφάνεια πριν χρησιμοποιήσετε το υποχλωριώδες νάτριο. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο της.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην πειράξετε και μην αλλοιώσετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης barcode να τον διαβάσει σωστά.
7. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
8. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
9. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
10. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
11. Περάστε τον ορό που θα αναλυθεί (50 μl) στην κυψελίδα 1 του σετ (βλ. εικόνα).
12. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

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

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

Το τεστ δεν μπορεί να γίνει πάνω σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 6 Αναλυτικές Οδηγίες, σημεία 1 και 8.
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός σετ, 50 μl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

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

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

Το δείγμα ορού μπορεί να αποδειχθεί:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν ο Index είναι > 1.2 .

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν ο Index είναι < 0.8 .

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: για όλες τις τιμές μεταξύ 0.8 και 1.2.

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Οροί που έχουν συλλεχθεί κατά το οξύ στάδιο της λοίμωξης, όταν υπάρχουν μόνο αντισώματα IgM, υπάρχει πιθανότητα να δώσουν αρνητικά αποτελέσματα με αυτή την μέθοδο.

Η συγκέντρωση των IgM αντι-ωχρού Τρηπονήματος, πρέπει να μετρηθεί χρησιμοποιώντας το kit Chorus Treponema pallidum IgM. Εναλλακτικά μπορεί να αναλυθεί ένα δεύτερο δείγμα που έχει συλλεχθεί 8-14 ημέρες αργότερα, για να ελεγχθεί τυχόν αύξηση των IgG.

Το αποτέλεσμα του τεστ πρέπει να συνεκτιμηθεί μαζί με τα δεδομένα που προέρχονται από άλλες διαγνωστικές αναλύσεις.

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

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Έγιναν αναλύσεις σε 25 ορούς ασθενών που περιείχαν αντισώματα αντι-Borrelia burgdorferi, 12 που περιείχαν αντι-πυρηνικά αντισώματα (ANA), 12 που περιείχαν αντισώματα αντι-ιού Epstein Barr. Τα ίδια δείγματα αναλύθηκαν στη συνέχεια και με δύο άλλα εμπορικά kit. Ένα μόνο δείγμα (EBV) έδωσε θετική αντίδραση, σε ένα από τα 2 εμπορικά kit που χρησιμοποιήθηκαν.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Σε έναν πειραματισμό, αναλύθηκαν 209 δείγματα, προερχόμενα από ένα αρχείο διατηρημένων ορών. Για σύγκριση χρησιμοποιήθηκε μία άλλη ανοσοενζυμική μέθοδος που βρίσκεται στην αγορά και τα δείγματα, στα οποία υπήρξε ασυμφωνία, ελέγχθηκαν με το kit Syphilis Screen Recombinant (κωδ. 91100 Diesse).

Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.:

		ΑΝΑΦΟΡΑ	
		+	-
CHORUS	+	43	1
	-	1	164

Το kit παρουσιάζει ευαισθησία 98% (CI 95%: 88–100) και ειδικότητα 99% (CI 95%: 97–100).

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Ακρίβεια κατά την ανάλυση

	Αριθμός επαναλήψεων	M. T. Index	Τυπική Απόκλιση	CV%
Παρτίδα 018	6	2.5	0.28	11
Παρτίδα 021	9	2.9	0.35	12
Παρτίδα 022	9	3.3	0.24	7

Ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων και μεταξύ παρτίδων

Δείγμα	M. T. Index			M. T.	Τυπική Απόκλιση	CV%
	Παρτίδα 018	Παρτίδα 021	Παρτίδα 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of Treponema pallidum Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of Treponema pallidum. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS TREPONEMA IgG

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgG ANTI TREPONEMA PALLIDUM EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

El diagnóstico serológico de la Sífilis se realiza mediante la detección de niveles significativos de anticuerpos específicos contra Treponema pallidum en muestras de suero

El método de referencia utilizado es el FTA-ABS, que permite la detección de IgG e IgM. Pero sin embargo su proceso es laborioso y la interpretación de la prueba no es simple, por lo que se han introducido métodos alternativos para simplificar dicho procedimiento.

La técnica ELISA permite automatizar el método y reportar resultados rápidos, reproducibles y específicos, siendo el método preferido por muchos laboratorios.

La determinación de anticuerpos IgM a diferencia de los anticuerpos IgG es de gran importancia en el diagnóstico de Sífilis congénita.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

Un pool de antígenos T. Pallidum recombinante “obtenido por la técnica en E. Coli es ligado a una la fase sólida”.

Las inmunoglobulinas específicas presentes en una muestra de suero humano previamente diluido, se unen al antígeno durante el tiempo de incubación.

Tras varios lavados para eliminar las posibles inespecificidades o aquellos componentes de la muestra que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, anticuerpos monoclonales humanos anti-IgG marcados con un enzima, peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido es eliminado mediante lavados y seguidamente se añade el sustrato cromogénico

El color generado es proporcional a la concentración de anticuerpos IgG específicos presentes en la muestra de suero.

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

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81050).

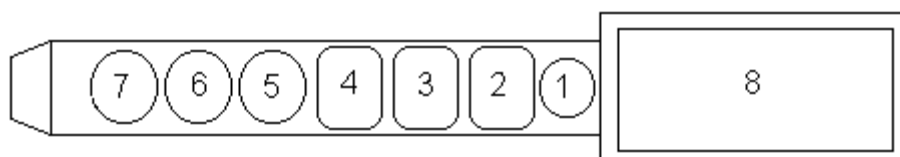
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81050/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81050).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81050/12).

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



Descripción:

Posición 8: espacio libre para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA sensibilizado con pool de antígenos de T. Pallidum.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 mL

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

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Agua Destilada u 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 colección de materiales potencialmente infecciosos

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

La fecha de caducidad está impresa en la etiqueta del dispositivo.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la abertura y/o de la preparación:

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

6. PRECAUCIONES DE USO

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Cuidado:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido probados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infecto. Todos los materiales de origen humano tienen que manejarse según las prácticas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manejar las muestras. Lavar las manos a fondo después de colocar los dispositivos en el equipo CHORUS.
2. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado contiene fenol
 - b) El sustrato es ácido
 Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.
3. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1,0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
4. El vertido de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario Chorus.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
8. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
9. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
10. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
11. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
12. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

El test no se puede aplicar a plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 6 Precauciones Analíticas puntos 1 y 8.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo nº1 de cada dispositivo, por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus proporciona un resultado en INDEX (relación entre el valor de la D.O. de la muestra y lo del Cut-off) que puede ser empleado como medida cuantitativa siendo proporcional a la cantidad de IgG específicas.

La muestra se considera:

Positivo: si el Index es > 1.2 .

Negativo: si el Index es < 0.8

Dudoso/Equívoco: para todos los valores entre 0.8 y 1.2

En caso de resultado dudoso/equívoco, se aconseja repetir la prueba.

11. LIMITACIONES

Las muestras tomadas durante la fase aguda de la infección, cuando están presentes solamente los anticuerpos IgM, podrían resultar negativas con este procedimiento.

El nivel de las IgM anti-Treponema pallidum tendría que ser determinado usando el kit Chorus Treponema pallidum IgM. Si no, se podría analizar una segunda muestra de suero recogida 8-14 días después para determinar un eventual incremento del nivel de IgG.

El resultado de la prueba tendría que ser evaluado conjuntamente con otros resultados procedentes de otros procedimientos de diagnóstico.

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

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 25 sueros de pacientes conteniendo anticuerpos anti-Borrelia burgdorferi, 12 conteniendo anticuerpos antinucleares (ANA), 12 conteniendo anticuerpos anti-Epstein Barr Virus. Las mismas muestras se compararon con otros dos kits en comercio. En una sola muestra (EBV) se obtuvo reacción positiva en uno de los dos kits comerciales utilizados.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba clínica, se analizaron 209 muestras procedentes de una sueroteca; por comparación se utilizó otro método inmunoenzimático comercial, y las muestras en desacuerdo se controlaron con Syphilis Screen Recombinant (ref. 91100 Diesse).

Los resultados están resumidos en la tabla siguiente.

REFERENCIA		
	+	-
CHORUS +	43	1
-	1	164

El kit tiene una sensibilidad del 98% (CI 95%: 88–100) y una especificidad del 99% (CI 95%: 97–100).

14. REPRODUCIBILIDAD

Precisión intra-ensayo

	Número de réplicas	Media Index	Desv. Estándar	CV%
Lot no. 018	6	2.5	0.28	11
Lot no. 021	9	2.9	0.35	12
Lot no. 022	9	3.3	0.24	7

Reproducibilidad entre ensayos y entre lotes

Muestra	Media Index			Media	Desv. Estándar	CV%
	Lot 018	Lot 021	Lot 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema Pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema Pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema Pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS TREPONEMA IgG

(Français)

1. APPLICATION

DETERMINATION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgG ANTI-TREPONEMA PALLIDUM DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF MONO USAGE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS

2. INTRODUCTION

Le diagnostic sérologique de la syphilis s'effectue à travers l'identification des anticorps spécifiques à titre significatif pour le Tréponème pallidum dans le sérum du patient. La FTA-ABS est la méthode de référence qui permet la révélation des IgG aussi que des IgM. Puisque l'exécution de cette méthode est laborieuse et l'interprétation des résultats n'est pas facile, on a recherché des méthodes alternatives pour simplifier le déroulement. L'ELISA offre des résultats reproductibles et spécifiques en manière complètement automatique et on le préfère pour ce motif. Le dosage spécifique des IgM plutôt que des IgG est très important dans le diagnostic de la syphilis congénitale.

3. PRINCIPE

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). Un pool d'antigènes *T. pallidum* obtenus avec une technique recombinante dans l'E. Coli, est lié à la phase solide. A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après des lavages pour éliminer les protéines qui ne se sont pas liés, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués à la peroxydase.

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

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

4. CONTENU DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 81050).

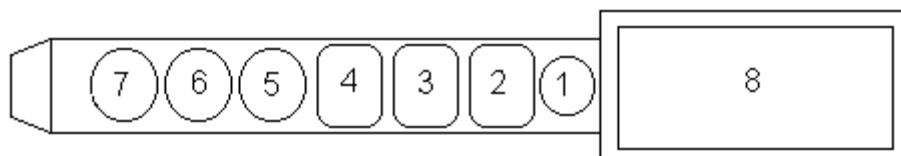
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81050/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81050).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81050/12).

Usage: **Équilibrer un sachet à température ambiante**, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisées dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C



Description:

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

Position 7: vide

Position 6: Puits de la microplaque sensibilisé avec un pool d'antigènes du *Treponema pallidum*

Position 5: Puits de la microplaque non sensibilisé

Position 4: SUBSTRAT TMB

Contenu: Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/mL et du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0.01 % stabilisé dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH = 3.8)

Position 3: DILUENT DES ECHANTILLONS

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

Position 2: CONJUGUE

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

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + CONTROLE POSITIF 1 x 0.425 mL

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

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

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

5. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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

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

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

**6. PRECAUTIONS D'UTILISATION
POUR DIAGNOSTIC IN VITRO.****ATTENTION:**

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

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

PRECAUTIONS DE SECURITE

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à usage unique et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons. Se laver soigneusement les mains après avoir distribué les dispositifs dans le Chorus.
2. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
 - a) Le conjugué contient du phénol
 - b) Le substrat est acide.
3. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorure de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.

4. En cas de versement accidentel de matériaux potentiellement infectieux, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorure de sodium (1%), avant de continuer le test. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorure de sodium. Tout matériel (notamment les gants) souillé par d'éventuelles éclaboussures doit être considéré comme potentiellement infectieux et éliminé selon la réglementation en vigueur. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant l'hypochlorure de sodium.

PRECAUTIONS ANALYTIQUES

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

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

Ne pas utiliser d'échantillon de plasma humain.

8. MODE OPERATOIRE

1. Découper le sachet du côté contenant la fermeture à pression, sortir le numéro de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 6 : Précautions analytiques no. 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque change du lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer la calibration (si nécessaire) et le test selon le procédé reporté dans le Manuel de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu (on l'utilise comme décrit dans le Manuel du Chorus). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors du range d'acceptabilité, il faut répéter la calibration. Les résultats précédents viennent corrigés automatiquement.

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

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

L'échantillon est considéré comme:

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

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

11. LIMITES DE LA METHODE

Un sérum obtenu pendant la phase aiguë de l'infection, quand seulement les anticorps IgM sont présents, peut être négatif avec cette méthode. Le niveau des IgM anti-T. pallidum doit être déterminé en utilisant le coffret Treponema IgM. Alternativement, un deuxième échantillon prélevé 8-14 jours plus tard, devrait être contrôlé en parallèle pour déterminer un incrément des anticorps IgG.

Il y a la possibilité d'une réaction croisée si l'échantillon contient des anticorps anti-E. coli.

Les résultats obtenus servent seulement comme aide pour le diagnostic, et ils doivent être interprétés ensemble avec des autres observations.

12. SENSIBILITE ANALYTIQUE

Nous avons testé 25 sérums de patients contenant des anticorps anti-Borrelia burgdorferi, 12 contenant des anticorps anti-nucléaire (ANA), 12 contenant des anticorps anti-EBV. Les mêmes échantillons ont été testés avec 2 autres trousses du commerce. Dans un seul cas (EBV) on a trouvé une réaction positive avec une des méthodes du commerce.

13. SENSIBILITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUE

Dans une expérimentation, 209 échantillons provenant de la sérothèque, ont été analysés avec cette méthode et avec une autre méthode immunoenzymatique du commerce. Les résultats discordants ont été vérifiés avec un kit Syphilis Screen Recombinant (ref. 91100 Dienes).

Les résultats sont reportés dans la table suivante:

		REFERENCE	
		+	-
CHORUS	+	43	1
	-	1	164

La sensibilité est de 98% (CI 95%: 88–100) et la spécificité est de 99% (CI 95%: 97–100).

14. PRECISION

Precision dans la série

	Nombre de répliques	Moyen Index	S.D.	CV%
Lot no. 018	6	2.5	0.28	11
Lot no. 021	9	2.9	0.35	12
Lot no. 022	9	3.3	0.24	7

Precision inter- séries et entre lots

Echantillon	Moyen Index			Moyen	S.D.	CV%
	Lot 018	Lot 021	Lot 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. BIBLIOGRAPHIE

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema Pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema Pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).

5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema Pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. *J. Clin. Microbiol.* 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. *J. Gen. Microbiol.* 133: 1805 (1987).



INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS TREPONEMA IgG

(Português)

1. FINALIDADE

DETECÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS IgG CONTRA O TREPONEMA PALLIDUM EM SORO HUMANO, USANDO UM DISPOSITIVO DESCARTAVEL APLICADO AOS EQUIPAMENTOS CHORUS

2. INTRODUÇÃO

A diagnose sorológica de sífilis se realiza demonstrando a presença de anticorpos específicos contra o Treponema pallidum nas amostras dos pacientes.

O método de referência é FTA-ABS, que permite de detectar as IgG e as IgM. Porém, a execução é laboriosa e a interpretação dos resultados não é simples, portanto foram desenvolvidos métodos alternativos para simplificar o procedimento. O método ELISA é completamente automático e produz resultados reprodutíveis e específicos; por este motivo é usados por muitos operadores.

A detecção específica de IgG e de IgM é muito importante para diagnose de sífilis congênita

3. PRINCIPIO DE AÇÃO

O teste é um enzimaimunoensaio (ELISA). Uma mistura de antígenos recombinantes de Treponema pallidum, obtidos de E. Coli, é insolubilizada na fase sólida. Durante a incubação com soro humano diluído, as imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno insolubilizado. Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra não ligados são removidos. Em uma segunda incubação adiciona-se o anticorpo anti-IgG humana, conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Após aspiração e lavagem outros componentes do conjugado não ligados são removidos.

A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno-substrato, gera um sinal óptico que é proporcional a quantidade dos anticorpos específicos presentes na amostra.

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

4. REAGENTES DO KIT E PREPARO

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81050).

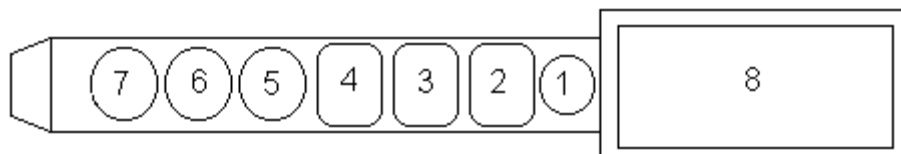
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81050/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81050).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81050/12).

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



Descrição:

Posição 8: Espaço disponível para rotular com código de barras

Posição 7: vazio

Posição 6: CAVIDADE DE MICROPLACA sensibilizada com uma mistura de antígenos de T.pallidum

Posição 5: CAVIDADE DE MICROPLACA não sensibilizada

Posição 4: TMB SUBSTRATO

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

Posição 3: DILUENTE DE AMOSTRAS

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

Posição 2: CONJUGADO

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

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.425 mL

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

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

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

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

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

5. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

6. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Atenção:

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo nenhum teste diagnostico garante a ausência dos agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana precisam ser considerados potencialmente infecciosos. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as faixas utilizadas devem ser tratados como resíduos infecciosos e portanto, eliminados em conformidade com as disposições legais aplicáveis.

Precauções de Biossegurança

1. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear as amostras e durante o teste. Lavar as mãos depois de inserir o dispositivo no equipamento CHORUS.
2. Os seguintes reagentes contem baixas concentrações de substancias perigosas ou irritantes:

- a) O conjugado contem fenol
- b) O substrato é ácido

Em caso de contato desses reagentes com os olhos e pele, lavar abundantemente com água.

3. Ácidos neutralizados e outros descartes líquidos precisam ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para atingir uma concentração final de 1%. Deixando agir o hipoclorito por 30 minutos geralmente é suficiente para uma desinfecção válida.
4. Derramamentos de materiais potencialmente infecciosos precisam ser removidos imediatamente com mataborrão e a área infectada deve ser limpa, por exemplo, com hipoclorito de sódio 1%, antes de continuar o trabalho. Caso esteja presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para limpeza, incluindo luvas, devem ser descartados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

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

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

7. TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

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

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

Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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

9. ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

A amostra será:

Positiva: quando o Index é >1.2

Negativa: quando o Index é < 0.8

Incerto/Equivocado: para todos os valores entre 0.8 e < 1.2 .

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

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Amostra de soro coletada durante a fase aguda da infecção, quando só anticorpos IgM são presentes, pode resultar negativa por este procedimento.

O nível de IgM contra o *Treponema pallidum* deve ser detectado usando o kit CHORUS SYPHILIS IgM IgM (REF 81051). Alternativamente, uma segunda amostra coletada 8-14 dias depois pode ser analisada, para verificar um possível aumento das IgG. O resultado do teste deve ser avaliado juntamente com as informações históricas do paciente e/ou outras avaliações diagnósticas.

Existe a possibilidade de reações cruzadas em amostras de pacientes com anticorpos contra *E. coli*

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram avaliadas 25 amostras de pacientes com anticorpos contra a *Borrelia burgdoferi*, 12 amostras com anticorpos contra núcleo (ANA), 12 amostras com anticorpos contra o vírus da Epstein Barr. A mesmas amostras foram testadas usando dois kits disponíveis no mercado. Só em uma amostra (EBV) foi encontrada uma reação positiva com um dos dois métodos comerciais.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Foram avaliadas 209 amostras de soroteca. As amostras foram testadas com outro produto comercial e as amostras com resultados discordantes foram controladas com Syphilis Screen Recombinant (ref. 91100 Diesse).

Os resultados são reportados na tabela seguinte.

	REFERÊNCIA	
	+	-
	43	1
DIESSE	+	1
	-	164

O produto mostra 98% de sensibilidade (CI 95%: 88–100) e 99% de especificidade (CI 95%: 97–100).

14. PRECISÃO

Precisão no teste

	Número de repetições	Média Index	Dev. St.	CV%
Lot no. 018	6	2.5	0.28	11
Lot no. 021	9	2.9	0.35	12
Lot no. 022	9	3.3	0.24	7

Precisão entre testes e entre lotes

Amostra	Média Index			Média	Dev. St.	CV%
	Lot 018	Lot 021	Lot 022			
TPG 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
TPG 2	1.4	1.3	1.8	1.5	0.26	17
TPG 3	4.6	3.9	4.4	4.3	0.36	8

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).

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



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