



CHORUS

SYPHILIS SCREEN RECOMBINANT

REF 81100 (36 tests)

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
DIESE Diagnostica Senese
 Via delle Rose 10
 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 – 9



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
SYPHILIS SCREEN RECOMBINANT**

REF 81100

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DELLE IMMUNOGLOBULINE 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, a titolo significativo, specifici per il Treponema pallidum (TP).

Il metodo di riferimento è l'FTA-ABS, ma poiché l'esecuzione è laboriosa e l'interpretazione del test non è agevole, si sono trovati metodi alternativi in grado di semplificare la procedura.

Il TPHA è il test di elezione quando si tratta di effettuare uno screening in quanto è in grado di rivelare la presenza di Ig anche a basso titolo. Purtroppo il risultato del test è dato con interpretazione soggettiva in quanto il test non può essere completamente automatizzato. Il TPHA è insensibile nella fase primaria.

Il presente kit consente uno screening con tecnica ELISA in automazione che rileva la presenza di anticorpi specifici di qualunque classe. L'antigene impiegato si è ottenuto con tecnica ricombinante.

3. PRINCIPIO DEL METODO

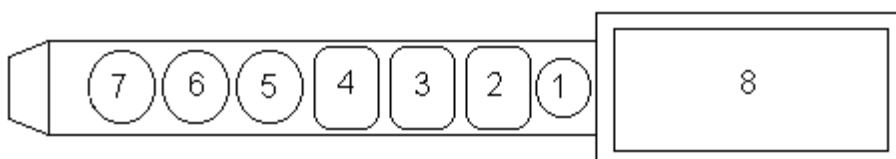
Il test si basa sul principio "sandwich", una tecnica di dosaggio immunoenzimatico in fase solida. Durante l'incubazione gli anticorpi eventualmente presenti nel campione si legano all'antigene in fase solida come anche all'antigene marcato con perossidasi (HRP), formando un complesso antigene-anticorpo-antigene-HRP. Il coniugato non legato viene eliminato attraverso lavaggi e l'attività enzimatica legata viene determinata con l'aggiunta di un substrato cromogeno. L'intensità del colore è proporzionale alla concentrazione di anticorpi anti-Treponema pallidum presenti nel campione.

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

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni,.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna



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

DESCRIZIONE

POSIZIONE 8: spazio disponibile per etichette con codice a barre

POSIZIONE 7: vuoto

POSIZIONE 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA SENSIBILIZZATO (Pozzetto di reazione) con antigeni ricombinanti del Treponema 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). 0.35 ml.

POSIZIONE 3: vuoto

POSIZIONE 2: CONIUGATO

Contenuto: miscela di proteine ricombinanti del *Treponema pallidum* marcate con perossidasi, in tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%. 0.35 ml.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 175 µl

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

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 425 µl

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

6. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO. CONSERVARE A 2-8°C

Attenzione:

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati da 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 ad ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti è normalmente 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. **Controllare che il substrato contenuto nel pozzetto 4 è incolore. Scartare i device che non hanno questa caratteristica.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza e l'esatta collocazione dei reagenti nel dispositivo e l'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 e non utilizzare dispositivi con etichette difettose.
7. Codice 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.
9. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
10. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
11. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura)
12. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

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

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

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel manuale d'uso dello strumento.

Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal range di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo Strumento Chorus fornisce il risultato in INDEX (rapporto fra il valore della D.O. del campione in esame e quello del Cut-Off).

Negativo: quando il risultato è < 0.8 .

Dubbio: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2

Positivo: quando il risultato è > 1.2 .

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il test non è in grado di discriminare la presenza di IgG da quella delle IgM.

Il risultato del test deve essere comunque valutato insieme a dati provenienti dalla storia del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

La specificità analitica è stata studiata testando campioni contenenti fattori potenzialmente interferenti come anticorpi Anti-nucleari EBV, anticorpi eterofili, anticorpi anti-Borrelia, Fattore Reumatoide (da 40 a 1080 UI/mL), Trigliceridi (≤ 870 mg/dL), Bilirubina (≤ 11 mg/dL), ed emoglobina (≤ 10 mg/dl). In nessun caso il risultato del test veniva alterato.

13. SPECIFICITA' E SENSIBILITA' DIAGNOSTICA

Nella sperimentazione, sono stati analizzati 53 campioni, di cui 27 sono risultati negativi, e 26 positivi. I campioni sono stati confrontati con un altro metodo in commercio.

I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Tabella 1

		RIFERIMENTO	
		+	-
CHORUS	+	26	0
	-	0	27

Il kit ha una specificità del 100% e (CI 95%: 88–100) una sensibilità del 100% (CI 95%: 87–100).

14. PRECISIONE

Tabella 2. Precisione all'interno della seduta

	No. di repliche	Media Index	Dev. St.	CV%
Lotto no. 030	9	1.8	0.11	6
Lotto no. 031	9	1.5	0.07	5
Lotto no. 034	9	3.3	0.18	5

Tabella 3. Precisione tra sedute e tra lotti

Campione	Media Index			Media	Dev. St.	CV%
	Lotto 030	Lotto 031	Lotto 034			
TPN 1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.00	0
TPN 2	0.8	0.7	0.6	0.7	0.10	14
TPN 3	1.2	1.4	1.1	1.2	0.15	12
TPN 4	4.3	4.3	4.1	4.2	0.12	3

15. BIBLIOGRAFIA

1. S. J. Norris: Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional and immunologic roles. *Microbiological Reviews*, 1993.
2. P.A. Hanff et al. Humoral immune response in human syphilis to polypeptides of *Treponema pallidum*. *J. Immunology* 129: 1287 (1982).
3. L. Lewis et al. Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. *J. Clin. Microbiol.* 28: 296 (1990).
4. H. Young et al., Enzywell recombinant enzyme immunoassay for the serological diagnosis of syphilis. *Int. J. STD and AIDS*. 11: 288-291 (2000).