

CHORUS

**BORDETELLA
PERTUSSIS TOXIN
IgA**



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Via delle Rose, 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy

REF 81274





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS BORDETELLA PERTUSSIS TOXIN IgA

**Per la determinazione quantitativa degli anticorpi
IgA anti-Bordetella pertussis toxin**

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa degli anticorpi di classe IgA anti-Bordetella pertussis toxin nel siero o plasma umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La pertosse è un'infezione acuta e molto contagiosa delle vie respiratorie che causa infiammazione e necrosi dell'epitelio ciliato del tratto respiratorio; produce reazioni immunologiche e fisiopatologiche.

La tossina della Pertosse (PT) è una proteina prodotta dal batterio Gram-negativo Bordetella pertussis, ed è uno dei principali fattori virulenti della malattia.

Il quadro tipico è caratterizzato da una fase di incubazione che dura 15-20 giorni, seguita da una fase catarrale della durata di 2 settimane, e infine da una fase parossistica di altre 2 o 3 settimane. Nei bambini piccoli, le complicazioni più gravi sono costituite da sovra-infezioni batteriche, che possono portare a otiti, polmonite, bronchiti, o addirittura affezioni neurologiche.

L'esame sierologico è basato sulla determinazione, tramite principio ELISA, di anticorpi specifici: anticorpi IgA specifici per la PT possono essere rilevati dopo 1-2 settimane e, persistere da 6 a 24 mesi a seconda dell'età. La produzione di IgA è più lenta nei bambini, mentre anticorpi IgA sono rilevabili nei lattanti dopo 6-8 settimane.

Gli anticorpi IgG compaiono non prima di 2-3 settimane dall'inizio della malattia e raggiungono il loro massimo dopo 6-8 settimane.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Bordetella pertussis toxin IgA è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgA anti-Bordetella pertussis toxin, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con il campione diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-IgA umane coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel campione in esame.

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

I risultati sono espressi in Unità Internazionali (IU/ml) calcolate in riferimento a WHO 1st IS NIBSC 06/140.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.

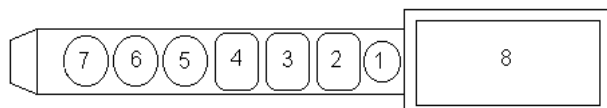
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento. **L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse (<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)**
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con Tossina di Bordetella Pertussis altamente purificata

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 tampone proteica.

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi anti-IgA umane marcate con perossidasi.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.450 mL
Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgA anti-Bordetella pertussis toxin e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.900 mL
Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgA anti-Bordetella pertussis toxin e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

Il campione 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. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

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

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire

gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.

- Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
- Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE **50 µl/dispositivo**
 CALIBRATORE **130 µl/dispositivo**
 CONTROLLO POSITIVO **130 µl/dispositivo**

- Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Unità Internazionali (IU/ml) (WHO 1st IS NIBSC 06/140), calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO: quando il risultato è > 20 IU/ml
 NEGATIVO: quando il risultato è < 10 IU/ml
 DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 10 IU/ml e 20 IU/ml

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescindano da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 1-70 IU/ml.
 Per campioni > 70 IU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 74 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.
 Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

Correlazione	r	95%CI
Pearson	0.97	0.96-0.98
Spearman	0.86	0.79-0.91

Il grado di correlazione tra i due metodi risulta essere molto alto (Pearson) ed alto (Spearman).

14. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	25.5	4.5	24.3	3.3
2	19.6	9.3	20.0	5.3
3	5.3	3.0	5.0	7.0

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	23.5	4.5	21.7	14.9
2	19.7	5.2	17.5	14.9
3	5.3	12.6	4.7	8.1

15. BIBLIOGRAFIA

- Riffelmann M., Krefeld H.K., Wirsing von König C.H., Xing D., He Q. (2012). Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis*. European Centre for Disease Prevention and Control.
- Guiso N., Berbers G., Fry N.K., He Q., Riffelmann M., Wirsing von König C.H. (2011). What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2011) 30:307-312.
- Riffelmann M., Thiel K., Schmetz J., Wirsing von König C.H. (2010). Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays of detection of Antibodies to *Bordetella Pertussis*. *Journal of Clinical Microbiology* p. 4459-4463.



DIESSSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Via delle Rose 10
 53035 Monteriggioni (Siena)
 Italy





CHORUS BORDETELLA PERTUSSIS TOXIN IgA

For the quantitative determination of anti-Bordetella pertussis toxin IgA antibodies

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the quantitative determination of IgA class antibodies against Bordetella pertussis toxin in human serum or plasma, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Whooping cough is an acute and very contagious infection of the respiratory tract. It causes inflammation and necrosis of the respiratory tract ciliated epithelium and it produces immunological and pathophysiological reactions.

Pertussis toxin (PT) is a protein produced by the Bordetella pertussis Gram-negative bacterium and it is one of the main virulent factors of the disease.

It is typically characterized by an incubation phase of 15-20 days, followed by a catarrhal stage of about 2 weeks, and in the end by a paroxysmal stage lasting 2 or 3 weeks. In young children more serious complications are constituted by further infections that can lead to otitis, pneumonia, bronchitis, or even neurological diseases.

The serological test is based on the determination of specific antibodies through the ELISA principle. IgA antibodies, specific for PT, can be detected after 1-2 weeks and persist for 6-24 months depending on the age. The IgA production is slower in children. IgA antibodies, in suckling infants, can be detected after 6-8 weeks.

IgG antibodies are not detectable before 2-3 weeks from the beginning of the disease and reach their maximum after 6-8 weeks.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Bordetella pertussis toxin IgA device is ready to use for the detection of IgA antibodies against Bordetella pertussis toxin, in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). The antigen is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with the diluted sample.

After washing to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-human IgA monoclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase. The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added. The blue colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the sample.

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

The results are expressed in International Units(IU/ml) calculated in reference to WHO 1st IS NIBSC 06/140.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response 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: samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.

The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software

installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

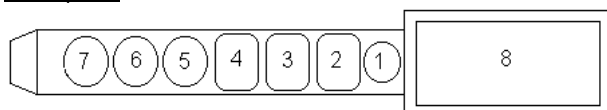
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with highly purified Bordetella pertussis toxin antigen

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 buffer solution.

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgA antibodies labelled with horseradish peroxidase.

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.450 mL

Contents: Diluted human serum containing anti-Bordetella pertussis toxin IgA antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.900 mL

Contents: Diluted human serum containing anti-Bordetella pertussis toxin IgA antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

The fresh sample may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

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.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense in well no. 1 of each device the following:

SAMPLE	50 µl/device
CALIBRATOR	130 µl/device
POSITIVE CONTROL	130 µl/device

4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the Instrument Operating Manual. If the instrument signals that the control

serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in International Units (IU/ml) (WHO 1st IS NIBSC 06/140), calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

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

POSITIVE: when the result is > 20 IU/ml

NEGATIVE: when the result is < 10 IU/ml

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 10 and 20 IU/ml

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

11. LIMITATIONS

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

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 1-70 IU/ml.

For samples > 70 IU/ml repeat the test pre-diluting the sample with Negative Control/Sample Diluent (PF83607 – not supplied with the kit).

13. METHOD COMPARISON

In an experimentation 74 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

Correlation	r	95%CI
Pearson	0.97	0.96-0.98
Spearman	0.86	0.79-0.91

The correlation between the two methods is very high (Pearson) and high (Spearman).

14. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean (IU/ml)	CV%	Mean (IU/ml)	CV%
1	25.5	4.5	24.3	3.3
2	19.6	9.3	20.0	5.3
3	5.3	3.0	5.0	7.0

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean	CV%	Mean	CV%

	(IU/ml)		(IU/ml)	
1	23.5	4.5	21.7	14.9
2	19.7	5.2	17.5	14.9
3	5.3	12.6	4.7	8.1

15. REFERENCES

- Riffelmann M., Krefeld H.K., Wirsing von König C.H., Xing D., He Q. (2012). Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis*. European Centre for Disease Prevention and Control.
- Guiso N., Berbers G., Fry N.K., He Q., Riffelmann M., Wirsing von König C.H. (2011). What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2011) 30:307-312.
- Riffelmann M., Thiel K., Schmetz J., Wirsing von König C.H. (2010). Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays of detection of Antibodies to *Bordetella Pertussis*. *Journal of Clinical Microbiology* p. 4459-4463.



DIESE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





CHORUS BORDETELLA PERTUSSIS TOXIN IgA

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgA anti-toxina de Bordetella pertussis

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgA anti-toxina de Bordetella pertussis en suero o plasma humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La tos ferina es una infección aguda y muy contagiosa de las vías respiratorias que causa inflamación y necrosis del epitelio ciliado del tracto respiratorio; produce reacciones inmunológicas y fisiopatológicas.

La toxina Pertussis (PT) es una proteína producida por la bacteria Gram-negativa Bordetella pertussis, y es uno de los principales factores virulentos de la enfermedad.

El cuadro típico se caracteriza por una fase de incubación que dura 15-20 días, seguida de una fase catarral que dura 2 semanas y, finalmente, de una fase paroxística de otras 2 o 3 semanas. En niños pequeños, las complicaciones más graves son las sobreinfecciones bacterianas, que pueden provocar otitis, neumonía, bronquitis o incluso trastornos neurológicos.

El análisis serológico se basa en la determinación, mediante el principio de ELISA, de anticuerpos específicos: los anticuerpos IgA específicos para PT se pueden detectar después de 1-2 semanas y persisten de 6 a 24 meses, según la edad. La producción de IgA es más lenta en niños, mientras que los anticuerpos IgA pueden detectarse en lactantes después de 6-8 semanas.

Los anticuerpos IgG aparecen no antes de 2-3 semanas desde el comienzo de la enfermedad y alcanzan su máximo después de 6-8 semanas.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Bordetella pertussis toxin IgA está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgA anti-toxina de Bordetella pertussis, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida. Las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno después de la incubación con la muestra diluida. Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto por anticuerpos monoclonales anti-IgA humanos conjugados con peroxidasa de rábano.

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

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

El resultado se expresa en Unidades Internacionales (IU/ml) calculadas con referencia a WHO 1st IS NIBSC 06/140.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

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

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que,

en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.

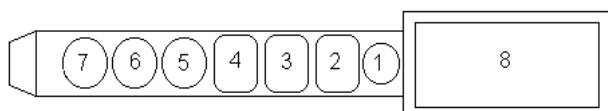
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con toxina de Bordetella pertussis altamente purificada

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución tampón proteica.

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos anti-IgA humanos marcados con peroxidasa.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde se dispensa la muestra.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los

dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.450 mL

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgA anti-Bordetella pertussis toxin y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.900 mL

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgA anti-Bordetella pertussis toxin y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. 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.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar en el pocillo n°1 de cada dispositivo:

MUESTRA **50 µl / dispositivo**
 CALIBRADOR **130 µl / dispositivo**
 CONTROL POSITIVO **130 µl / dispositivo**

4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en Unidades Internacionales (IU/ml) (WHO 1st IS NIBSC 06/140), calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La prueba realizada en la muestra se puede interpretar de la manera siguiente:

POSITIVO cuando el resultado es > 20 IU/ml
 NEGATIVO cuando el resultado es < 10 IU/ml
 DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 10 y 20 IU/ml

En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 1-70 IU/ml.

Para muestras > 70 IU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 74 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

Correlación	r	95%CI
Pearson	0.97	0.96-0.98
Spearman	0.86	0.79-0.91

El grado de correlación entre ambos métodos es muy alto (Pearson) y alto (Spearman).

14. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	25.5	4.5	24.3	3.3
2	19.6	9.3	20.0	5.3
3	5.3	3.0	5.0	7.0

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (IU/ml)	CV%	Media (IU/ml)	CV%
1	23.5	4.5	21.7	14.9
2	19.7	5.2	17.5	14.9
3	5.3	12.6	4.7	8.1

15. BIBLIOGRAFÍA

1. Riffelmann M., Krefeld H.K., Wirsing von König C.H., Xing D., He Q. (2012). Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis*. European Centre for Disease Prevention and Control.
2. Guiso N., Berbers G., Fry N.K., He Q., Riffelmann M., Wirsing von König C.H. (2011). What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2011) 30:307-312.
3. Riffelmann M., Thiel K., Schmetz J., Wirsing von König C.H. (2010). Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays of detection of Antibodies to *Bordetella Pertussis*. Journal of Clinical Microbiology p. 4459-4463.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Via delle Rose 10
 53035 Monteriggioni (Siena)
 Italy





CHORUS BORDETELLA PERTUSSIS TOXIN IgA

**Para a determinação quantitativa dos anticorpos
IgA anti-Toxina Bordetella pertussis**

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação quantitativa dos anticorpos IgA anti-Toxina Bordetella pertussis no soro ou plasma humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A pertussis é uma infecção aguda e muito contagiosa do trato respiratório que causa inflamação e necrose do epitélio ciliado do trato respiratório; produz reações imunológicas e fisiopatológicas.

A toxina da pertussis (PT) é uma proteína produzida pela bactéria Gram-negativa Bordetella pertussis, sendo um dos principais fatores de virulência da doença.

O quadro típico é caracterizado por uma fase de incubação que dura 15-20 dias, seguida de uma fase catarral de 2 semanas e, por fim, uma fase paroxística de mais 2 ou 3 semanas. Nas crianças pequenas, as complicações mais graves são sobreinfecções bacterianas, que podem levar a otite, pneumonia, bronquite, ou mesmo distúrbios neurológicos.

O teste serológico baseia-se no princípio ELISA para a detecção de anticorpos específicos: os anticorpos IgA específicos do PT podem ser detetados após 1-2 semanas e persistem durante 6 a 24 meses, dependendo da idade. A produção de IgA é mais lenta em crianças, enquanto os anticorpos IgA são detetáveis em bebês após 6-8 semanas.

Os anticorpos IgG não aparecem antes de 2-3 semanas após o início da doença e atingem o seu máximo após 6-8 semanas.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Bordetella pertussis toxin IgA está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgA anti-Toxina Bordetella pertussis, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por incubação com amostra diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti IgA humanos conjugados com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-se o substrato para a peroxidase. A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes na amostra examinada.

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

O resultado é expresso em Unidades Internacionais (IU/ml) calculadas em referência a WHO 1st IS NIBSC 06/140.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado.

Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns

reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.

4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.

O kit pode ser utilizado somente com uma versão atualizada de software. Certificar-se de que a versão (Rel.) do software instalado no instrumento coincida ou é superior à referida na tabela publicada no site da Diesse

(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

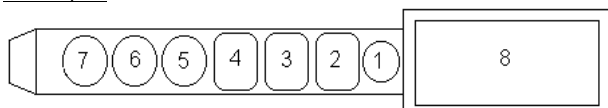
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
12. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com Toxina de Bordetella Pertussis altamente purificada

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução tampão proteica,

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos anti-IgA humanas marcados com peroxidase.

Posição 1: POÇO VAZIO

Para onde é transferida a amostra.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.450 mL

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgA anti-Toxina Bordetella pertussis e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.900 mL

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgA anti-Toxina Bordetella pertussis e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA **50 µl / dispositivo**
 CALIBRADOR **130 µl / dispositivo**
 CONTROLO POSITIVO **130 µl / dispositivo**

4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em Unidades Internacionais (IU/ml) (WHO 1st IS NIBSC 06/140), calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

O teste na amostra examinada pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 20 IU/ml
 NEGATIVO quando o resultado for < 10 IU/ml
 INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 10 IU/ml e 20 IU/ml

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 1-70 IU/ml.

Para amostras > 70 IU/ml repetir o teste diluindo primeiramente a amostra com o Negative Control Sample Diluent (PF83607-não fornecido com o kit).

13. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 74 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado. Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

Correlação	r	95%CI
Pearson	0.97	0.96-0.98
Spearman	0.86	0.79-0.91

O grau de correlação entre os dois métodos é muito alto (Pearson) e alto (Spearman).

14. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	25.5	4.5	24.3	3.3
2	19.6	9.3	20.0	5.3
3	5.3	3.0	5.0	7.0

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (IU/ml)	CV%	Média (IU/ml)	CV%
1	23.5	4.5	21.7	14.9
2	19.7	5.2	17.5	14.9
3	5.3	12.6	4.7	8.1













15. BIBLIOGRAFIA

1. Riffelmann M., Krefeld H.K., Wirsing von König C.H., Xing D., He Q. (2012). Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis*. European Centre for Disease Prevention and Control.
2. Guiso N., Berbers G., Fry N.K., He Q., Riffelmann M., Wirsing von König C.H. (2011). What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2011) 30:307-312.
3. Riffelmann M., Thiel K., Schmetz J., Wirsing von König C.H. (2010). Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays of detection of Antibodies to *Bordetella Pertussis*. *Journal of Clinical Microbiology* p. 4459-4463.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Via delle Rose 10
 53035 Monteriggioni (Siena)
 Italy



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