

CHORUS

CYTOMEGALOVIRUS IgM

**DIESSE**

REF 81011



0123

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
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	9



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

**Per la determinazione qualitativa degli anticorpi
IgM anti-Cytomegalovirus**

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-Cytomegalovirus nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Il cytomegalovirus è un herpes virus che si trasmette in stretto contatto interumano.

La maggior parte dei soggetti risulta infettata in modo asintomatico. Il virus, al contrario, è molto pericoloso nei pazienti immunodepressi nei quali può provocare la morte. Le donne sieronegative che contraggono la malattia durante la gravidanza la possono trasmettere al feto. Nel 95% dei casi questo avviene senza conseguenze ma nei neonati sintomatici si può avere ittero, epato-splenomegalia e ritardo psicomotorio. Per questo è molto importante conoscere lo stato immunitario della paziente ed osservare l'eventuale sieroconversione.

Il dosaggio delle IgM specifiche è di grande importanza per la diagnosi di infezione primaria.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Cytomegalovirus IgM è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-Cytomegalovirus, 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 siero umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-IgM umane coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

Per confermare la specificità della risposta, i campioni risultati positivi sono sottoposti al Confirmatory test: il siero in esame è preincubato con il reattivo "Confirmatory Test Reagent" (fibroblasti umani non infettati liofilizzati) in maniera da inibire, con il preassorbimento, eventuali reazioni aspecifiche del siero

verso componenti cellulari contaminanti l'antigene CMV insolubilizzato sulla fase solida. Dopo il preassorbimento i campioni sono nuovamente testati in ELISA con il metodo descritto precedentemente. La persistenza di positività conferma la presenza di anticorpi specifici.

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

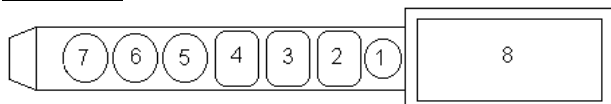
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinatori 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: Sede per pozzetto CONFIRMATORY TEST REAGENT

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene del Cytomegalovirus ottenuto da colture di fibroblasti umani infettate con Cytomegalovirus parzialmente purificato ed inattivato

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

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CONFIRM TEST TEST DI CONFERMA

Contenuto: liofilo di antigene da colture di cellule non infettate

Uso: leggere il procedimento al punto 10.1.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-Cytomegalovirus e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-Cytomegalovirus 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
CONFIRMATORY TEST REAGENT	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

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

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

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

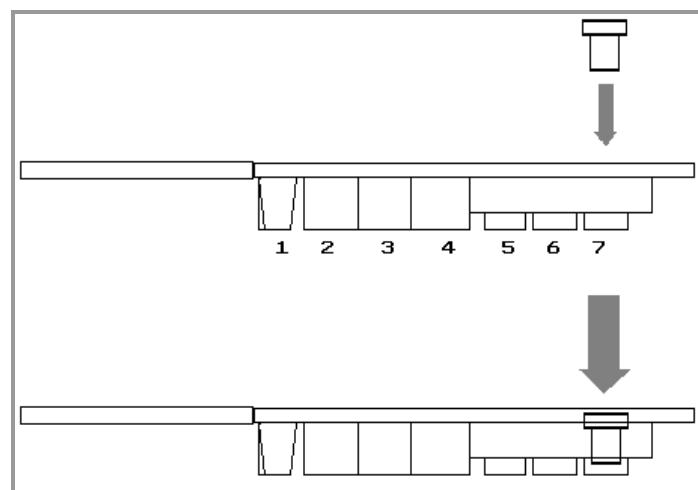
In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo.

In caso di risultato positivo effettuare il test di conferma utilizzando il **confirmatory test reagent**

10.1 PROCEDIMENTO TEST DI CONFERMA:

1. Aprire la busta contenente il confirmatory reagent, prendere il numero di pozzetti necessari per eseguire i test e conservare gli altri richiudendo la busta con del nastro adesivo.
2. Porre il pozzetto del liofilo nella posizione 7 del device bloccandolo premendo fino in fondo (vedi fig 1).
3. Effettuare sulla pellicola del liofilo due fori con un puntale di plastica.
4. Dispensare nel pozzetto liofilo 50 µl del campione da confermare.
5. Attendere 5 minuti senza agitare, successivamente miscelare 2 o 3 volte **molto lentamente** utilizzando una pipetta.
6. Dispensare i 50 µl nel pozzetto 1 del dispositivo.
7. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus. Eseguire il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.
8. Interpretare i risultati come riportato al punto 10.

Fig. 1



11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Poiché la diagnosi sierologica dell'infezione congenita comporta notevoli difficoltà, l'isolamento virale dalle urine durante la prima settimana di vita rimane la tecnica più sicura per diagnosticare un'infezione intrauterina. L'assenza delle IgM specifiche anti-CMV non esclude la presenza di un'infezione da CMV. E' stato riferito che il 10-30% di neonati non sviluppa una risposta anticorpale anti-CMV di tipo IgM, malgrado la presenza dell'infezione congenita.

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

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 36 campioni contenenti:

Fattore Reumatoide (20)
Bilirubina (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)
Trigliceridi (356 mg/dl) (1)
Emoglobina (8)

La presenza nel siero in esame delle sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

13. CROSS-REATTIVI

18 campioni, positivi a Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 138 campioni con kit DIESSE e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
DIESSE	+	20	2	22
	-	0	116	116
	Totale	20	118	138

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.96.

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Campione	Tra lotti/Tra strumenti	
	Media Index	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

**For the qualitative determination of IgM
antibodies anti-Cytomegalovirus**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgM class antibodies against Cytomegalovirus in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Cytomegalovirus is a herpes virus transmitted by close human contact. No symptoms of infection are apparent in the majority of cases. However, the virus is very dangerous and may be fatal in immunodepressed patients. Serum-negative female patients who become infected during pregnancy may transmit the disease to the fetus. In 95% of cases this occurs without symptoms, but some neonates may present jaundice, hepatosplenomegaly and retarded psycho-motorial development. For this reason it is of great importance to determine the immunitary state of the patient before the start of pregnancy, if possible, and check for serum conversion.

The assay of specific IgM is of great importance in the diagnosis of primary infection.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Cytomegalovirus IgM device is ready to use for the detection of IgM antibodies against Cytomegalovirus, in the Chorus/ Chorus TRIO instruments.

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

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

To confirm the specificity of the response, positive samples are subjected to the Confirmatory test: the test serum is preincubated with the Confirmatory Test Reagent (freeze-dried non infected human fibroblasts) in order to inhibit, by preabsorption, eventual non specific reactions of the serum

towards cell components contaminating the CMV antigen coated on the solid phase. After preabsorption the samples are retested in ELISA with the method described previously. A second positive result confirms the presence of specific antibodies.

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

The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**

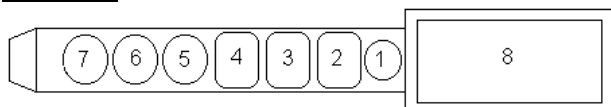
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Well for CONFIRMATORY TEST REAGENT

Position 6: MICROPLATE WELL

coated with Cytomegalovirus antigen obtained from the culture of human fibroblasts infected with partially purified and inactivated Cytomegalovirus

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 anti human IgG antibody, phenol 0,05%, Bronidox 0,02% and an indicator to reveal the presence of the serum.

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgM 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

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.

CONFIRM TEST CONFIRMATORY TEST REAGENT

Contents: Freeze-dried antigen from the culture of non infected cells.

Use: read the procedure reported at paragraph 10.1.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies anti-Cytomegalovirus and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies anti-Cytomegalovirus 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
CONFIRMATORY TEST REAGENT	8 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 1.1

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

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

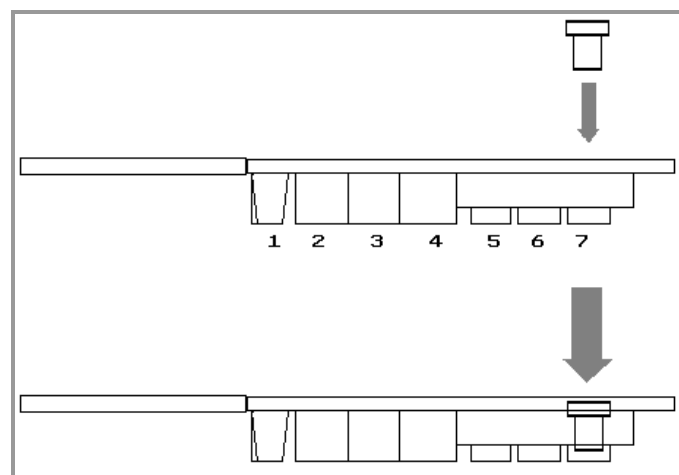
In the case of a positive result, perform the confirmatory test using **the confirmatory test reagent**.

10.1. CONFIRMATORY TEST PROCEDURE

1. Open the packet containing the confirmatory reagent, remove the number of wells required to perform the test, store the remaining wells in the packet and seal with adhesive tape.

2. Place the well of freeze-dried reagent in position 7 of the device, pressing it well down to the bottom (see fig.1).
3. Using a plastic pick, make two holes in the film covering the reagent.
4. Dispense 50 µl of the test sample to be confirmed, in the well containing the lyophilized reagent.
5. Wait 5 minutes before mixing, then mix **very slowly** 2-3 times using a pipette.
6. Dispense the 50 µl in well 1 of the device.
7. Place the devices in the Chorus instrument. Perform the test as reported in the Chorus Instructions Manual.
8. Interpret the results as reported in paragraph 10.

Fig. 1



11. LIMITATIONS

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

Because of all the complications of serologic diagnosis of congenital infection, virus isolation from urine in the first week of life remains the best way to diagnose intrauterine involvement. Absence of CMV specific IgM does not exclude the possibility of CMV infection. It has been reported that 10-30% of infants may fail to develop CMV IgM antibody response despite congenital infection with CMV.

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

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

36 samples containing:

Rheumatoid Factor (20)
Bilirubin (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)
Triglycerides (356 mg/dl) (1)
Hemoglobin (8)

were tested.

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

13. CROSS-REACTIONS

18 samples, positive to Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex were tested.

No significant cross-reactions were found.

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 138 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	20	2	22
	-	0	116	116
	Total	20	118	138

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.96.

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Sample	Precision between batches/between instruments	
	Mean Index	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early

antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).

5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

PRO kvalitativní STANOVENÍ IgM ANTI- Cytomegalovirus PROTILÁTEK

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k kvalitativnímu stanovení IgM protilátek proti Cytomegalovirus v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Cytomegalovirus je herpes virus přenášený blízkým lidským kontaktem. Ve většině případů se neobjevují žádné příznaky infekce. Tento virus je však velmi nebezpečný a u pacientů s oslabenou imunitou může být fatální. Sérum-negativní pacientky, které byly infikovány během těhotenství, mohou přenést toto onemocnění na plod. U 95 % případů je průběh bez symptomů, u některých novorozenců může způsobit žloutenku, hepatosplenomegalii a zpomalený psychomotorický vývoj. Proto je velmi důležité určit stav imunitního systému pacientky ještě před otěhotněním, je-li to možné, a zkontrolovat konverzi séra.

Vyšetření na specifické IgM protilátky je velice důležité při diagnóze primární infekce.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus Cytomegalovirus IgM je připraven k použití pro zkoušku na IgM protilátky proti Cytomegalovirus, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi.

Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

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

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

Aby se potvrdila specifita reakce, musí se pozitivní vzorky podrobit konfirmačnímu testu: Testované sérum se nejprve inkubuje s reagentií pro konfirmaci testu (lyofilizované neinfikované lidské fibroblasty), aby se tak absorpci zamezilo eventuálním nespecifickým reakcím séra s buněčnými

komponenty kontaminujícími CMV antigen na pevné fázi. Po absorpci se vzorky testují znovu testem ELISA, výše popsanou metodou. Druhý pozitivní výsledek potvrzuje přítomnost specifických protilátek.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagentie potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a 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 přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

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

Opatření pro správné provedení testu

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

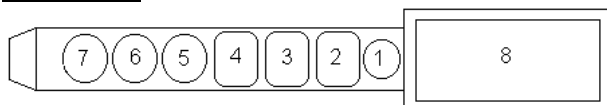
- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
- Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
- Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
- Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
- Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
- Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
- Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
- Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
- Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
- Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: Jamka pro REAGENCIÍ PRO KONFIRMAČNÍ TEST

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

potažená antigenem Cytomegaloviru, získaná z kultury lidských fibroblastů infikovaných Cytomegalovirem částečně purifikovaný a inaktivovaný

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující anti-lidské IgG protilátky, fenol 0.05 %, Bronidox 0.02 % a indikátor přítomnosti séra.

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CONFIRM TEST REAGENCIE PRO KONFIRMAČNÍ TEST

Obsah: Sušením zmrazený antigen z kultury neinfikovaných buněk.

Použití: Čtete postup uvedený v odstavci 10.1.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.175 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgM proti Cytomegaloovirus a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.425 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgM proti Cytomegaloovirus a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagenty mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
POZ. KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
REAGENCIE PRO KONFIRM. TEST	8 týdnů při teplotě 2–8 °C

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

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

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

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

Rozmrazovat se smí maximálně 3 krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

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

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1.1

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0.9

SPORNÝ/NEJASNE PRO VSECHNY HODNOTY MEZI 0.9 a 1.1

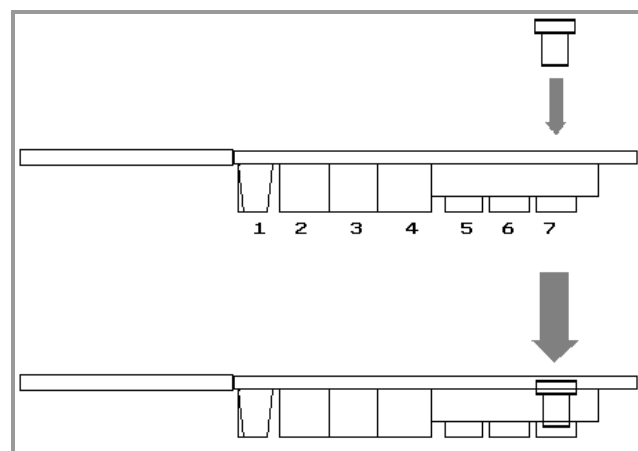
V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný/nejednoznačný, seberte nový vzorek.

V případě pozitivního výsledku proveďte konfirmační test pomocí reagentie pro konfirmační test.

10.1. JAK POSTUPOVAT PŘI KONFIRMAČNÍM TESTU

1. Otevřete balení obsahující konfirmační reagentii, vyjměte požadovaný počet jamek a zbývající jamky uložte do balení, které uzavřete lepicí páskou.
2. Jamku se sušenou reagentií umístěte do pozice 7 nástroje a zatlačte ji až úplně na dno (viz obr. 1).
3. Do filmu kryjícího reagentii udělejte dva otvory plastickým párátkem.
4. Do jamky obsahující lyofilizovanou reagentii vložte 50 µl testovaného vzorku, který chcete potvrdit.
5. Než začnete míchat, počkejte 5 minut, poté zamíchejte pipetou **velmi pomalu** 2–3 krát.
6. 50 µl vzorku vložte do jamky 1 nástroje.
7. Nástroje vložte do zařízení Chorus. Proveďte test, jak je popsán v Návodu k použití zařízení Chorus.
8. Při interpretaci výsledků postupujte podle odstavce 10.

Obr. 1



11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Specifickou IgM reakci lze pozorovat u reaktivace a reinfekce, a také u primárních infekcí CMV. Protože serologická diagnóza vrozené infekce skýtá mnoho komplikací, zůstává izolace viru z moči v prvním týdnu života nejlepším způsobem, jak diagnostikovat nitroděložní postižení. Absence CMV specifických IgM nevylučuje možnost CMV infekce. Studie ukazují, že u 10–30 % dětí nedojde k reakci IgM protilátek na CMV, ačkoliv trpí kongenitální CMV infekcí. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 22 vzorků obsahujících:

Revmatoidní faktor (20)
Bilirubin (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)
Triglyceridy (356 mg/dl) (1)
Hemoglobin (8)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séra nezměnila výsledky testu.

13. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 18 vzorky pozitivní na Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex.

NEBYLY ZJIŠTĚNY ŽÁDNÉ VÝZNAMNÉ ZKŘÍŽENÉ REAKCE.

14. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 138 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	–	Celkem
Diesse	+	20	2	22
	–	0	116	116
	Celkem	20	118	138

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Negativní shoda v procentech: (~ diagnostická specifita):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s Cohenovou Kappa dosahující 0.96.

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr Index	CV %	Průměr Index	CV %
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi / Přesnost mezi nástroji	
	Průměr Index	CV %
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. REFERENČNÍ LITERATURA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).

4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

Zur qualitativen Bestimmung von Anti-Cytomegalovirus IgM Antikörpern

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

11. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung von Anti-Cytomegalovirus Antikörpern der Klasse IgM im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

12. EINLEITUNG

Das Cytomegalievirus ist ein Herpesvirus, das durch engen zwischenmenschlichen Kontakt übertragen wird.

Der Großteil der Personen ist asymptomatisch infiziert. Für immunschwache Patienten ist das Virus hingegen sehr gefährlich und kann zum Tod führen. Seronegative Frauen, die die Krankheit während der Schwangerschaft erwerben, können sie auf den Fetus übertragen. In 95 % der Fälle zieht dies keine Folgen nach sich, symptomatische Neugeborene können aber an Ikterus, Hepatosplenomegalie und psychomotorischer Entwicklungsverzögerung leiden. Deshalb ist es sehr wichtig, den Immunitätsstatus der Patientin zu kennen und eine eventuelle Serokonversion zu beobachten.

Die Dosierung der spezifischen IgM-Antikörper ist für die Diagnose einer Erstinfektion von großer Bedeutung.

13. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Cytomegalovirus IgM ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Anti-Cytomegalovirus Antikörpern der Klasse IgM in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das Antigen wird an die Festphase gebunden. In Folge der Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human-IgM Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der blauen Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

Zur Bestätigung der Spezifität der Reaktion werden die Proben mit positivem Ergebnis dem Confirmatory Test unterzogen: Das untersuchte Serum wird mit dem Reagenz „Confirmatory Test Reagent“ (lyophilisierte, nicht infizierte humane Fibroblasten) vorinkubiert, damit durch die Vorabsorption eventuelle unspezifische Reaktionen der Serums gegenüber Zellkomponenten verhindert werden, die das auf der Festphase unlöslich gemachte CMV-Antigen kontaminieren. Nach der Vorabsorption werden die Proben erneut mit der zuvor beschriebenen ELISA-Methode getestet. Ist das Ergebnis weiterhin positiv, ist die Präsenz spezifischer Antikörper bestätigt.

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

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

14. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
10. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
11. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.

12. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1%igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

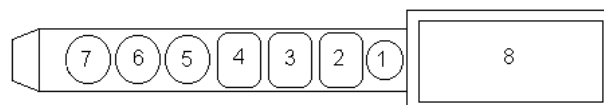
1. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
5. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koagulierte Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
12. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

15. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Platz für die Vertiefung CONFIRMATORY TEST REAGENT

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

die mit Cytomegalievirus-Antigen, das aus humanen, mit Cytomegalievirus (partiell gereinigten und inaktivierten) infizierten Fibroblastenkulturen gewonnen wurde, sensibilisiert wurde

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiertw

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 Anti-human-IgG-Antikörpern, 0,05 % Phenol, 0,02 % Bronidox und einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst

Position 2: KONJUGAT

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

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen

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

CONFIRM TEST BESTÄTIGUNGSTEST

Inhalt: Lyophilisat aus Antigen aus nicht infizierten Zellkulturen

Verwendung: Für die Vorgehensweise unter Punkt 10.1 nachlesen

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Inhalt: Verdünntes Humanserum mit Anti-Cytomegalievirus IgM Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.425 ml

Inhalt: Verdünntes Humanserum mit Anti-Cytomegalievirus IgM Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608

- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

16. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C
CONFIRMATORY	
TEST REAGENT	8 Wochen bei 2–8 °C

17. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

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

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

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

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

18. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.

2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu analysierenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

19. TESTVALIDITÄT

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

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

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

20. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis > 1.1

NEGATIV: bei Ergebnis < 0.9

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 0.9 und 1.1

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

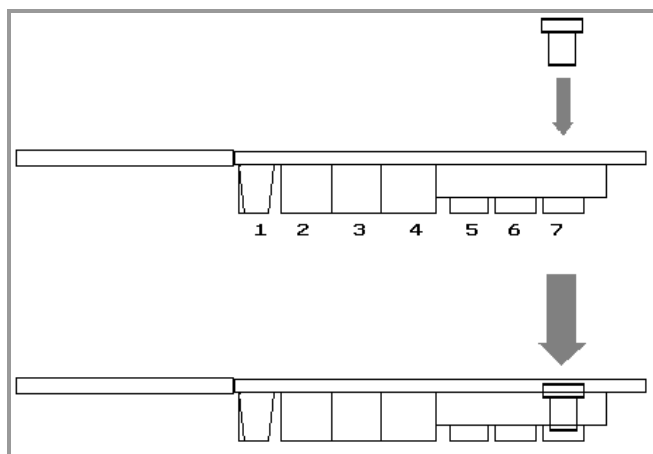
Im Fall eines positiven Ergebnisses den Bestätigungstest mit dem **Confirmatory Test Reagent** durchführen.

10.1 VORGEHENSWEISE FÜR DEN BESTÄTIGUNGSTEST

1. Den Beutel mit dem Confirmatory Reagent öffnen und die für den Test erforderliche Anzahl von Vertiefungen heraus nehmen. Die restlichen im Beutel aufbewahren und diesen mit Klebeband verschließen.
2. Die Vertiefung mit dem Lyophilat in die Position 7 des Testmoduls setzen und hineindrücken, um sie zu fixieren (siehe Abb. 1).

3. Mit einer Kunststoffspitze zwei Löcher in die Folie des Lyophilats bohren.
4. In die Vertiefung des Lyophilats 50 µl der zu bestätigenden Probe dispensieren.
5. Minuten warten, ohne zu schütteln, danach 2 oder 3 Mal **sehr langsam** mit Hilfe einer Pipette mischen.
6. Die 50 µl in die Vertiefung 1 des Testmoduls dispensieren.
7. Die Testmodule in den Chorus Laboranalysator einlegen. Den Test gemäß Anweisung in der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.
8. Die Ergebnisse laut Punkt 10 interpretieren.

Abb. 1



11. GRENZEN DES TESTS

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

Da die serologische Diagnose der kongenitalen Infektion große Schwierigkeiten bereitet, bleibt die Isolierung des Virus aus dem Urin während der ersten Lebenswoche die sicherste Technik für die Diagnostik einer intrauterinen Infektion. Das Fehlen der spezifischen Anti-CMV-IgM-Antikörper schließt die Präsenz einer CMV-Infektion nicht aus. Es wird berichtet, dass 10–30% der Neugeborenen trotz einer vorhandenen kongenitalen Infektion keine Anti-CMV-IgM-Antikörperreaktion entwickeln.

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

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 36 Proben getestet, die Folgendes beinhalten:

Rheumafaktor (20)
 Bilirubin (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)
 Triglyceride (356 mg/dl) (1)
 Hämoglobin (8)

Die Präsenz der oben genannten Interferenten im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

13. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 18 positive Proben Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex getestet.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

14. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 138 Proben mit dem Testsatz Diese und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diese	+	20	2	22
	-	0	116	116
	Insgesamt	20	118	138

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Negative Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

Cohens Kappa: 0.96.

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert Index	CV %	Mittelwert Index	CV %
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Probe	Zwischen Chargen / Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert Index	CV %
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. LITERATUR

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).

4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgM κατά του Κυτταρομεγαλοϊού**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgM κατά του Κυτταρομεγαλοϊού στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κυτταρομεγαλοϊός είναι ένας ιός έρπητα που μεταδίδεται με στενή ανθρώπινη επαφή.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των ατόμων προσβάλλεται σε ασυμπτωματική μορφή. Ο ιός, αντίθετα, είναι πολύ επικίνδυνος για τους υπό ανοσοκαταστολή ασθενείς, στους οποίους μπορεί να αποβεί θανατηφόρος. Οι οροαρνητικές γυναίκες που προσβάλλονται από την ασθένεια κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, μπορούν να την μεταδώσουν στο έμβρυο. Στο 95% των περιπτώσεων αυτό γίνεται χωρίς συνέπειες αλλά στα συμπτωματικά νεογνά μπορεί να προκληθεί ίκτερος, ηπατο-σπληνομεγαλία και καθυστέρηση στην ψυχοκινητική ανάπτυξη. Γι' αυτό τον λόγο έχει μεγάλη σημασία να είναι γνωστή η ανοσολογική κατάσταση της ασθενούς και να παρακολουθείται μια ενδεχόμενη ορομετατροπή.

Η προσδιορισμός των ειδικών IgM παίζει σημαντικό ρόλο στην διάγνωση της πρωτογενούς λοίμωξης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus Cytomegalovirus IgM είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM αντι-Cytomegalovirus, στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

Για την επικύρωση της απάντησης, τα δείγματα που προέκυψαν θετικά περνάνε από το Confirmatory test: ο υπό εξέταση ορός προ-επώαζεται με το σχετικό αντιδραστήριο "Confirmatory Test Reagent" (μη μολυσμένοι κρυοαφυδατωμένοι άνθρωποι ινοβλάστες) έτσι ώστε να εμποδιστούν, με την προ-αναρρόφηση, πιθανές μη ειδικές αντιδράσεις του ορού κατά των κυτταρικών συστατικών που μολύνουν το αδιάλυτο στη στερεά φάση αντιγόνο CMV. Μετά την προ-αναρρόφηση τα δείγματα αναλύονται και πάλι στο περιβάλλον ELISA με την μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως. Η συνεχής παρουσία θετικής τιμής επιβεβαιώνει την παρουσία ειδικών αντισωμάτων.

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

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

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε προσεκτικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ συμβουλευέστε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμη κατόπιν αιτήματος).
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η

τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγυηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.

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

Αναλυτικές οδηγίες

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

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

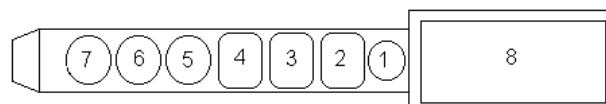
12. Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμητού κώδικα

Θέση 7: ΚΥΨΕΛΙΔΑ Confirmatory Test Reagent

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

ευαισθητοποιημένη με αντιγόνο Κυτταρομεγαλοϊού που προέρχεται από καλλιέργεια ανθρώπινων ινοβλαστών μολυσμένων από Κυτταρομεγαλοϊό μερικώς κεκαθαρμένο και αδραντοποιημένο

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

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

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

CONFIRM TEST ΤΕΣΤ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗΣ

Περιεχόμενο: Λυόφιλος αντιγόνου προερχόμενος από καλλιέργεια μη μολυσμένων κυττάρων

Χρήση: διαβάστε τη διαδικασία στο σημείο 10.1

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που εμπεριέχει αντισώματα IgM anti-Cytomegalovirus και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που εμπεριέχει αντισώματα IgM αντί-Cytomegalovirus και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Συσκευή Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 µl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

ΣΕΤ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΤΕΣΤ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος δείγματος αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις από την χρησιμοποίηση άλλων βιολογικών υγρών.

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

Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές.

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

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1.1

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 0.9

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

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

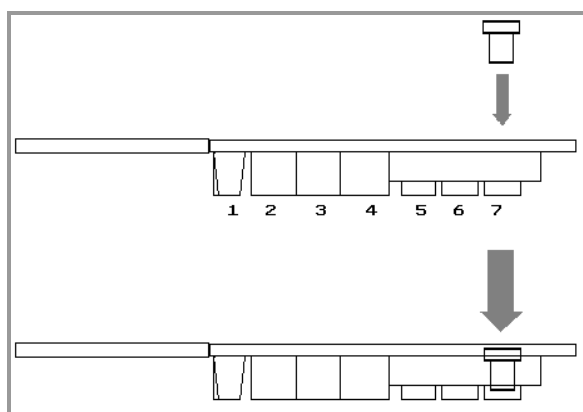
Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος κάνετε το τεστ επιβεβαίωσης χρησιμοποιώντας το confirmatory test reagent.

10.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΕΣΤ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗΣ

1. Ανοίξτε τη σακούλα που περιέχει το confirmatory reagent, πάρτε όσες κυψελίδες χρειάζονται για την

- εκτέλεση του τεστ και φυλάξτε τις υπόλοιπες κλείνοντας και πάλι την σακούλα με σελοτέιπ.
2. Τοποθετήστε την κυψελίδα με τον λυόφιλο στη θέση 7 του σετ, πιέζοντάς την μέχρι να φτάσει μέχρι στον πυθμένα (βλ. εικ. 1)
 3. Με μία πλαστική μύτη κάνετε δύο τρύπες στην ταινία που καλύπτει τον λυόφιλο.
 4. Ρίξτε 50 ul από το δείγμα, για το οποίο κάνετε το τεστ επιβεβαίωσης, στην κυψελίδα με τον λυόφιλο,
 5. Περιμένετε 5 λεπτά χωρίς να ανακινήσετε και στη συνέχεια αναμείξτε 2 ή 3 φορές, **με πολύ αργές κινήσεις**, χρησιμοποιώντας μία πιπέτα.
 6. Ρίξτε τα 50 ul στην κυψελίδα 1 του σετ.
 7. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus. Εκτελέστε το τεστ ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.
 8. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων: σημείο 10.

Fig. 1



11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

Επειδή η ορολογική διάγνωση συγγενούς λοίμωξης παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες, η απομόνωση του ιού στα ούρα κατά την πρώτη εβδομάδα ζωής, παραμένει η πιο ασφαλής μέθοδος για την διάγνωση μιας ενδομητρίου λοίμωξης. Η απουσία των ειδικών IgM αντι-CMV δεν αποκλείει την παρουσία μιας λοίμωξης από CMV. Έχει αναφερθεί ότι ένα ποσοστό 10-30% των νεογνών δεν αναπτύσσει αντισώματα αντι-CMV του τύπου IgM, παρά την παρουσία της συγγενούς λοίμωξης.

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

12. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 36 δείγματα που περιείχαν:

Ρευματοειδής παράγοντας (20)

Χολερυθρίνη (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)

Τριγλυκερίδια (356 mg/dl) (1)

Αιμοσφαιρίνη (8)

Η παρουσία των προαναφερθέντων παρεμβατικών ουσιών στον εξεταζόμενο ορό δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 18 δείγματα, θετικά σε Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex.

Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 138 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

Diesse	Αναφορά		
	+	-	Σύνολο
	+	-	Σύνολο
	20	2	22
	0	116	116
	20	118	138

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Percent Negative Agreement (~Διαγνωστική ειδικότητα):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (σταθερά του Cohen) 0.96.

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή Index	CV%	Μέση Τιμή Index	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων / Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή Index	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-Cytomegalovirus

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-Cytomegalovirus en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

El Citomegalovirus es un virus herpes que se transmite por contacto humano. La mayoría de casos no presentan síntomas de infección aparentes. Sin embargo, en pacientes inmunodeprimidos el virus es particularmente grave, pudiendo causar la muerte. Las mujeres seronegativas que contraen esta enfermedad durante el embarazo la pueden transmitir al feto. En el 95% de los casos esto sucede sin consecuencias pero en ocasiones algunos neonatos pueden presentar ictericia, hepato-esplenomegalia y retraso psicomotriz. Por esta razón es importante determinar el título de anticuerpo de la paciente y observar la eventual seroconversión. El título de las IgM específicas es muy importante para el diagnóstico de infección primaria.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Cytomegalovirus IgM está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgM anti-Cytomegalovirus, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

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

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

Para confirmar la especificidad de la respuesta, las muestras que resultaron positivas se subordinan a la prueba confirmatoria: se preincuba el suero examinado con el reactivo "Confirmatory Test Reagent" (fibroblastos humanos no

infectados liofilizados) de manera de inhibir por medio de preabsorción, eventuales reacciones no específicas del suero hacia componentes celulares que contaminan el antígeno CMV no solubilizado en la fase sólida. Después de la preabsorción, las muestras se prueban de nuevo en ELISA con el método descrito previamente. La persistencia de la positividad confirma la presencia de anticuerpos específicos.

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

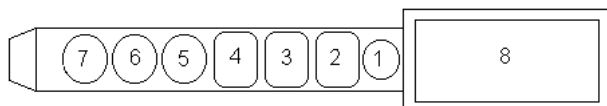
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten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

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: Pocillo por el CONFIRMATORY TEST REAGENT

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA sensibilizado con antígeno del Cytomegalovirus obtenido de culturas de

fibroblastos humanos infectadas por Cytomegalovirus parcialmente purificado e inactivo

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas, con anti-IgG humanas, fenol al 0.05%, Bronidox 0.02% y un marcador para indicar la presencia de suero

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CONFIRM TEST TEST DE CONFIRMACION

Contenido: Liofilizado de antígeno de culturas de células no infectadas.

Uso: leer las instrucciones al punto 10.1

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM anti-Cytomegalovirus y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM anti-Cytomegalovirus 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
CONFIRMATORY TEST	
REAGENT	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

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

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

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

8. PROCEDIMIENTO

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 1.1

NEGATIVO cuando el resultado es < 0.9

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 0.9 y 1.1

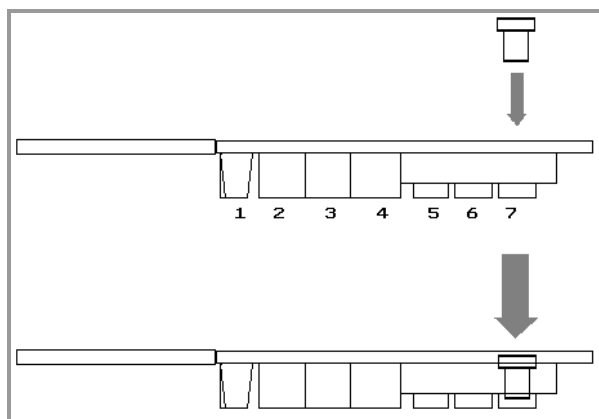
En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

En caso de resultado positivo, ejecutar el test de confirmación utilizando el **confirmatory test reagent**.

10.1.1 PROCEDIMIENTO TEST DE CONFIRMACIÓN

1. Abrir el envase que contiene el reactivo de confirmación, retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, cerrándolo con cinta adhesiva.
2. Colocar el pocillo del liofilizado en la posición 7 del dispositivo bloqueándolo presionando hasta el fondo (ver fig. 1).
3. Con un palito de plástico, hacer dos agujeros sobre la película del liofilizado.
4. Dispensar 50 µl de la muestra a confirmar en el pocillo de liofilizado.
5. Esperar 5 minutos sin agitar, luego mezclar 2 o 3 veces **muy despacio** utilizando una pipeta.
6. Dispensar 50 µl en el pocillo 1 del dispositivo.
7. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus. Ejecutar la prueba según las indicaciones del Manual del Usuario Chorus.
8. Interpretar los resultados como reportado en el punto 10.

Fig.1



11. LIMITACIONES

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

Debido a todas las complicaciones del diagnóstico serológico de la infección congénita, el aislamiento del virus de la orina durante la primera semana de vida sigue siendo la mejor manera de diagnosticar la infección intrauterina. La ausencia de IgM específica anti-CMV no excluye la presencia de una infección provocada por CMV. Se ha comprobado que el 10-30% de niños no desarrollan una respuesta de anticuerpos anticorporal anti-CMV de tipo IgM, a pesar de la presencia de la infección congénita.

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

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 36 muestras contenentes:

Factor reumatoide (20)
Bilirrubina (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)
Triglicéridos (356 mg/dl) (1)
Hemoglobina (8)

La presencia en el suero de las sustancias interferentes antes mencionadas no afecta el resultado del test.

13. REACCIONES CRUZADAS

18 muestras, positivas en Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex fueron testadas.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 138 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

Referencia		
+	-	Total

Diesse	+	20	2	22
	-	0	116	116
	Total	20	118	138

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y, con un valor de K (constante de Cohen) de 0.96.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Muestra	ENTRE LOTES/ ENTRE EQUIPOS	
	Media Index	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. BIBLIOGRAFÍA

- G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
- Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
- M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
- F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
- P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
- R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

Pour la détermination qualitative des anticorps IgM anti-Cytomegalovirus

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps de classe IgM anti-Cytomegalovirus dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Le cytomegalovirus est un virus herpétique qui se transmet dans les situations de rapports humains étroits. La plus grande partie des sujets atteints reste asymptomatique. Le virus, au contraire, est très dangereux pour les patients immunodéprimés, chez lesquelles le virus peut provoquer la mort. Les femmes séronégatives qui contractent la maladie pendant la grossesse, peuvent la transmettre au fœtus.

Dans 95% des cas, cela se produit sans autres conséquences, mais le nouveau-né peut présenter des symptômes, comme l'ictère, l'hépatosplénomégalie, ou un retard du développement psychomoteur. Pour cette raison, il est très important de connaître l'état immunitaire de la patiente et observer l'éventuelle séroconversion. Le dosage des immunoglobulines IgM spécifiques est très important pour le diagnostic de l'infection primaire.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Cytomegalovirus IgM est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgM anti-Cytomegalovirus, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

En le faisant incubé avec du sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgM humaines conjugués à de la peroxydase de raifort. Le conjugué qui ne s'est pas lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

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

Pour confirmer la spécificité de la réponse, les échantillons qui se sont avérés positifs sont soumis au Confirmatory test: le sérum examiné est préincubé avec le réactif «Confirmatory Test Reagent» (fibroblastes humains non infectés lyophilisés) de manière à inhiber, avec la pré-absorption, d'éventuelles réactions aspécifiques du sérum envers les composants cellulaires contaminant l'antigène CMV insolubilisé sur la phase solide. Après la pré-absorption, les échantillons sont de nouveau testés dans ELISA avec la méthode décrite précédemment. La persistance de positivité confirme la présence d'anticorps spécifiques.

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

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

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1 % minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée

avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

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

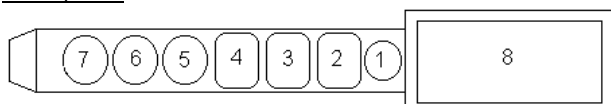
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
5. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
9. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
10. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum non complètement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description :



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

Position 7 : PUIITS pour le Confirmatory Test Reagent

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec des antigènes du Cytomégalo virus obtenu à partir de culture de fibroblastes humains infectés par le Cytomégalo virus partiellement purifié et inactivé

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu: Solution protéique contenant des anticorps anti-IgG humaines, additionnée de 0.05% de phénol et 0.02% de bronidox et une indicateur pour révéler la présence du sérum.

Position 2 : CONJUGUÉ

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

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

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

CONFIRM TEST TEST DE CONFIRMATION

Contenu: Antigène lyophilisé de cultures de cellules non infectées

Uso: voir les instructions au paragraphe 10.1

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.175 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM anti-Cytomegalovirus et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgM anti-Cytomegalovirus et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants jetables

- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C
CONFIRMATORY	
TEST REAGENT	8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

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

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

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

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

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

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

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

8. PROCÉDURE

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

9. VALIDATION DU TEST

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

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

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

POSITIF quand le résultat est > 1.1

NÉGATIF quand le résultat est < 0.9

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

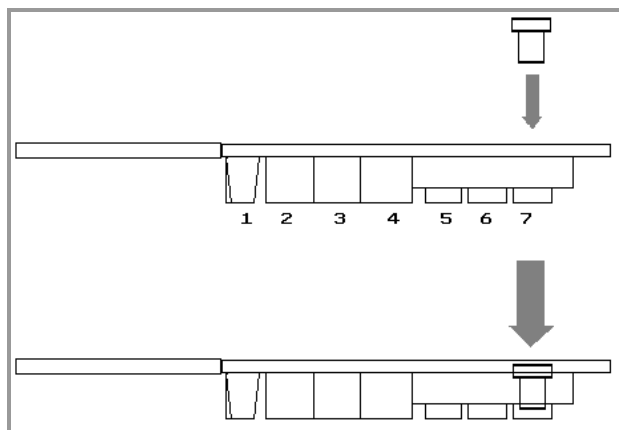
En cas de résultat douteux/équivoque, refaire le test. Si le résultat reste douteux/équivoque, répéter le prélèvement.

En cas d'un résultat positif, effectuer le test de confirme en utilisant le Confirmatory Test Reagent.

10.1. PROCÉDE POUR EFFECTUER LE TEST DE CONFIRME

1. Ouvrir le sachet contenant le réactif de confirme, prendre le numéro di puits nécessaires pour effectuer le test et conserver les autres dans le sachet fermé avec le ruban adhésif.
2. Placer le puits du réactif lyophilisé dans la position 7 du dispositif, en le bloquant avec une pression jusqu'au fond (voire la fig. 1).
3. Effectuer deux trous sur la pellicule en utilisant un ferret de plastique.
4. Dispenser dans le puits du lyophile, 50 µl de l'échantillon qu'il faut confirmer.
5. Attendre 5 minutes sans agiter, après mélanger 2-3 fois très lentement, en utilisant une pipette.
6. Dispenser 50 µl dans le puits no. 1 du dispositif.
7. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer le test comme reporté dans le Manuel d'Instructions de l'instrument.
8. Interpréter les résultats come reporté au paragraphe 10.

Fig. 1



11. LIMITES DU TEST

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

La diagnose sérologique d'une infection congénitale est très difficile, et la révélation virale dans l'urine pendant la première semaines de vie reste la technique la plus sûre pour diagnostiquer une infection intra-utérine.

Un résultat négatif n'exclue pas la possibilité d'une infection active de CMV. Il y a l'évidence que 10-30% des nouveaux-nés ne développent pas une réponse anticorpale anti-CMV IgM, malgré la présence d'une infection congénitale.

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

12. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

On a testé 36 échantillons contenant :

Facteur rhumatoïde (20)

Bilirubine (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)

Triglycérides (356 mg/dl) (1)

Hémoglobine (8)

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

13. RÉACTIONS CROISÉES

18 échantillons positifs aux Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

14. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 138 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

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

Diesse		Référence		
		+	-	Total
	+	20	2	22
	-	0	116	116
	Total	20	118	138

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.96.

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne Index	CV %	Moyenne Index	CV %
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Échantillon	INTER-LOTS/ INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne Index	CV %
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. BIBLIOGRAPHIE

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).

6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. *Diagnosis* 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. *la Ricerca Clin. Lab.* 10: 83 (1980).



INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

Para a determinação qualitativa dos anticorpos IgM anti-Cytomegalovirus

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa dos anticorpos IgM anti-Cytomegalovirus no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O citomegalovírus (CMV) é um vírus herpético transmitido por meio de contato direto entre os seres humanos. Na maioria dos casos os pacientes são infectados em forma assintomática. O vírus, pelo contrário, é muito perigoso em pacientes imunodeficientes, que podem morrer. Mulheres soronegativas, infectadas durante a gravidez podem transmiti-la ao feto. No 95% dos casos este acontece sem conseqüências, mas nos recém nascidos sintomáticos pode ocorrer itero, hepato-splenomegalia e retardo psíquico motorio. Por este motivo é muito importante conhecer a situação imunitária da paciente e observar a eventual sor conversão.

A detecção das IgM específicas é de grande importância na diagnose de infecção primária.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Cytomegalovirus IgM está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgM anti-Cytomegalovirus, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

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

Para confirmar a especificidade da resposta, as amostras com resultado positivo são submetidas ao Confirmatory test: o soro em exame é pré-incubado com o reactivo "Confirmatory Test Reagent" (fibroblastos humanos não infectados liofilizados) de modo a inibir, com o pré-absorvimento, possíveis reacções

inespecíficas do soro contra componentes celulares contaminantes o antígeno CMV insolubilizado na fase sólida. Após o pré-absorvimento, as amostras são testadas novamente em ELISA com o método descrito anteriormente. A persistência de positividade confirma a presença de anticorpos específicos.

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

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

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as amostras 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 desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área.

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

Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

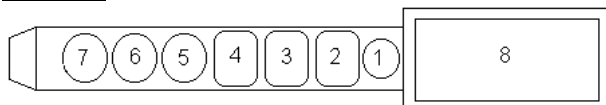
- 1. Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
- Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
- Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.
- 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.
- Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
- Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
- Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
- Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
- Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
- Amostras fortemente hemolisadas, lipêmicas, ictericas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
- 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: POÇO para CONFIRMATORY TEST REAGENT

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizada com antígeno de Citomegalovírus proveniente de cultura de fibroblastos humanos infectados com Citomegalovírus parcialmente purificado e tornado inativo

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 protéica, contendo anti-IgG humanas, fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para revelar a presença de soro.

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

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

CONFIRM TEST TESTE DE CONFIRMAÇÃO

Conteúdo: liófilo de antígeno proveniente de culturas de células não infectadas.

Modo de usar: ler o procedimento do ponto 10.1

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti-Cytomegalovirus e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti-Cytomegalovirus 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
CONFIRMATORY	
TEST REAGENT	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

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

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

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

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

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 1.1

NEGATIVO quando o resultado for < 0.9

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 0.9 e 1.1

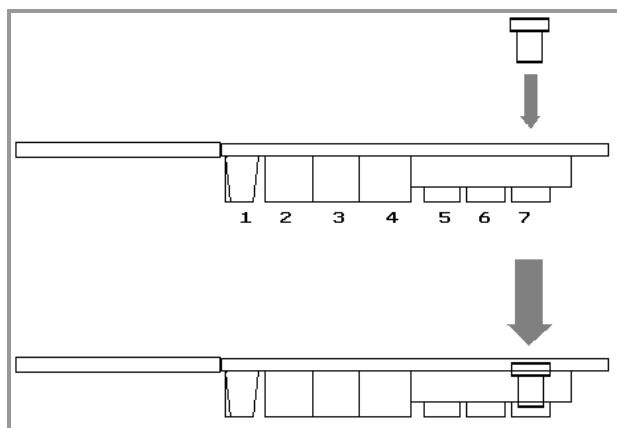
Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado. Se o resultado continuar incerto/equivocado, repetir a recolha.

Em caso de resultado positivo, realize a análise de confirmação com o **reagente para o teste de confirmação**.

10.1 PROCEDIMENTO DA ANÁLISE DE CONFIRMAÇÃO

1. Abra o envelope que contém o reagente para a confirmação, pegue o número necessário de microcavidades para realizar as análises e conserve as outras, fechando o envelope com fita adesiva.
2. Coloque a microcavidade do liófilo na posição 7 do dispositivo e prima até o fundo (veja fig. 1).
3. Efectue dois furos na película do liófilo com uma ponta de plástico.
4. Introduza na microcavidade 50µl da amostra a ser confirmada.
5. Espere 5 minutos sem agitar; em seguida, misture 2 ou 3 vezes **muito lentamente**, utilizando uma pipeta.
6. Introduza agora os 50µl na microcavidade 1 do dispositivo.
7. Insira os dispositivos no instrumento Chorus. Realize o teste conforme as indicações do Manual de Instruções do instrumento.
8. Interpretação dos Resultados de acordo com o ponto 10.

Fig. 1



11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

A diagnose sorológica da infecção congênita é muito difícil, portanto o isolamento viral das urinas, durante a primeira semana de vida, continua sendo a técnica mais certa para diagnosticar uma infecção intra-uterina. A ausência das IgM específicas anti-CMV, não exclui a presença de uma infecção de CMV. Foi reportado que 10-30% dos recém nascidos não desenvolvem uma resposta anticorpal anti-CMV de tipo IgM, apesar da presença de infecção congênita.

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

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 36 amostras contendo:

Fator Reumatoide (20)
Bilirrubina (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)
Triglicéridos (356 mg/dl) (1)
Hemoglobina (8)

A presença, no soro em análise, das substâncias interferentes acima referidas não altera o resultado do teste.

13. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 18 amostras, positivas em Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex.

Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 138 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado. Esquemizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	20	2	22

	-	0	116	116
	Total	20	118	138

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaio	
	Média Index	CV%	Média Index	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Amostra	Entre Lotes/ Entre Equipamentos	
	Média Index	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. BIBLIOGRAFIA

- G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
- Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
- M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
- F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
- P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
- R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

**Pentru determinarea calitativa a anticorpilor IgM
anti-Cytomegalovirus**

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea calitativa a anticorpilor de clasa IgM anti-Cytomegalovirus in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Citomegalovirusul este un Herpes virus transmis prin contact intim uman. In majoritatea cazurilor nu sunt vizibile simptomele infectiei. In orice caz, virusul este foarte periculos si poate fi fatal la pacientii imunodepresivi. Pacientii de gen feminin cu ser negativ care s-au infectat in timpul sarcinii pot transmite boala fetei. In 95% din cazuri acestea apar fara simptome, dar unii nou nascuti pot prezenta icter, hepato-splenomegalie si dezvoltare psiho-motoare retardata. Din acest motiv este foarte important sa se determine stadiul imunitatii pacientului inainte de sarcina, daca este posibil, si sa se verifice conversia serului. Testarea IgM specific este foarte importanta in diagnosticarea infectiei primare.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Cytomegalovirus IgM este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgM impotriva Cytomegalovirus, pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

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

Pentru confirmarea specificitatii raspunsului, probele pozitive sunt supuse testului de confirmare: serul testat este preincubat cu reactivul testului de confirmare (fibroblast uman congelat uscat neinfestat) pentru a inhiba, prin preabsorptie, eventualele reactii nespecifice ale serului fata de componentele celulare care contamineaza antigenul CMV depus pe faza solida. Dupa

absorbtie probele sunt retestate in ELISA cu metoda descrisa anterior. Un al doilea rezultat pozitiv confirma prezenta specificitatii anticorpilor.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru

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

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

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

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

Masuri de Precautie Analitice

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

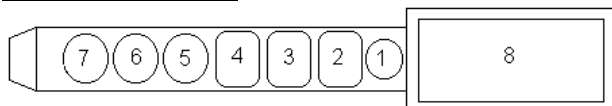
1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive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

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

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

DD DISPOZITIVE 6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive.

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: Godeu pentru REACTIV AL TESTULUI CONFIRMATIV

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

captusit cu antigen Citomegalovirus obtinut din cultura de fibroblastele umane infectata cu Citomegalovirus partial purificat si inactivat

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Solutie proteica cu continut de anticorpi anti-umani IgG, fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator care sa arate prezenta serului.

Pozitia 2: CONJUGAT

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

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

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

CONFIRM TEST REACTIVUL TESTULUI CONFIRMATIV

Continut: Antigen liofilizat din culturi ale celulelor neinfectate.

Utilizare: cititi procedura prezentata la paragraful 10.1.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Continut: Ser uman diluat continand IgM anticorpi anti-Cytomegalovirus si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 ml

Continut: Ser uman diluat continand IgM anticorpi anti-Cytomegalovirus si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlariie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului). Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

DISPOZITIVELE	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATORUL	8 saptamani la 2/8°C
CONTROLUL POZITIV	8 saptamani la 2/8°C
REACTIVUL TESTULUI	
CONFIRMATIV	8 saptamani la 2/8°C

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

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

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

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

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

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

8. PROCEDURA ANALIZEI

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

9. VALIDAREA TESTULUI

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

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

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

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

POZITIV: cand rezultatul este > 1.1

NEGATIV: cand rezultatul este < 0.9

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

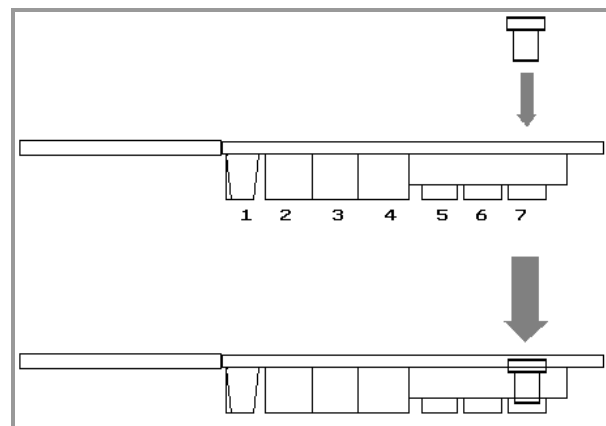
Daca rezultatul este incert/echivoc, repetati testul. Daca ramane incert/ echivoc, colectati o noua proba de ser.

In cazul unui rezultat pozitiv, efectuati un test confirmativ utilizand **testul reactiv confirmativ**.

10.1 PROCEDURA TESTULUI CONFIRMATIV:

1. Deschideti pachetul care contine reactivul de confirmare, indepartati numarul godeurilor solicitate pentru efectuarea testului, pastrati godeurile ramase in pachet si sigilati cu banda adeziva.
2. Puneti godeul cu reactiv liofilizat in pozitia 7 a dispozitivului, impingandu-l in jos spre fund. (vezi fig. 1).
3. Utilizand un virf de plastic, faceti doua gauri in plasticul care acopera godeul.
4. Pipetati 50 µl din testul proba care trebuie confirmat, in godeul continand reactiv liofilizat.
5. Asteptati 5 minute inainte de amestecare, apoi amestecati foarte incet, de 2-3 ori utilizand o pipeta.
6. Pipetati 50 µl in godeul 1 al dispozitivului.
7. Puneti dispozitivele in instrumentul Chorus. Efectuati testul conform Manualului de Instructiuni Chorus.
8. Interpretati rezultatele raportate in paragraful 10.

Fig. 1

**11. LIMITARI**

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

Din cauza tuturor complicatiilor de diagnostic serologic de infectii congenitale, izolarea virusului din urina in prima saptamana de viata ramane cea mai buna cale de diagnosticare a complicatiilor intrauterine. Absenta CMV IgM specific nu exclude posibilitatea unei infectii cu CMV. S-a

raportat ca 10-30% din copii pot sa nu dezvolte anticorpi CMV IgM ca reactie la infectia congenitala cu CMV.

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

12. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 36 probe continand:

Factor Reumatoid (20)

Bilirubina (2.9 mg/dl – 24.9 mg/dl) (7)

Trigliceride (356 mg/dl) (1)

Hemoglobina (8)

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

13. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 18 probe pozitive la: Epstein-Barr, Varicella e Herpes simplex.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

14. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 138 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmatoar:

		Referinta		
		+	-	Total
	+	20	2	22
Diesse	-	0	116	116
	Total	20	118	138

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului):

100% CI_{95%}: 83.9-99.8

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului):

98.3% CI_{95%}: 94.0-99.5

Acordul dintre cele doua metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.96.

15. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8
7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Proba	Precizia intre loturi / Precizia intre instrumente	
	Media Index	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. BIBLIOGRAFIE

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H.O. Kangro: Cytomegalovirus serology: does it give the answer? Serodiagnosis and Immunotherapy 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. et al.: Screening tests for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani et al.: Rapid detection of antibodies against cytomegalovirus induced immediate early and early antigens by an enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory et al.: Serological diagnosis of cytomegalovirus infections: comparison of six commercial methods of ELISA. Serodiagnosis and Immunotherapy 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte et al.: Cytomegalovirus umano. Diagnosis 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).



NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM

**IgM antikūnų prieš citomegalovirusą kokybiniam
nustatymui**

Skirta naudoti tik *in vitro* diagnostikai

1. TIKSLINIS NAUDOJIMAS

Imunofermentinis IgM klasės antikūnų prieš citomegalovirusą kokybinio nustatymo metodas žmogaus serume, naudojant vienkartinį prietaisą, naudojamą prietaisuose "Chorus" ir "Chorus TRIO".

2. ĮVADAS

Citomegalovirusas yra herpeso virusas, perduodamas per glaudų žmogaus kontaktą. Daugeliu atvejų infekcijos simptomai nepasireiškia. Tačiau virusas yra labai pavojingas ir gali būti mirtinas imunodeficitiniams pacientams. Serologiškai neigiamos pacientės, užsikrėtusios nėštumo metu, gali perduoti ligą vaisiui. 95 % atvejų tai vyksta be simptomų, tačiau kai kuriems naujagimiams gali pasireikšti gelta, kepenų splenomegalija ir sulėtėjęs psichomotorinis vystymasis. Dėl šios priežasties labai svarbu nustatyti pacientės imuninę būklę prieš nėštumo pradžią, jei įmanoma, ir patikrinti serumo konversiją. Specifinio IgM tyrimas yra labai svarbus diagnozuojant pirminę infekciją.

3. METODO PRINCIPAS

"Chorus" citomegaloviruso IgM prietaisas yra paruoštas naudoti IgM antikūnams prieš citomegalovirusą aptikti "Chorus" / "Chorus TRIO" prietaisuose.

Tyrimas pagrįstas ELISA (su fermentais susietos imuno sorbcinės analizės) principu. Antigenas prisijungia prie kietosios fazės. Specifiniai imunoglobulinai prisijungia prie antigeno inkubuoiant su praskiestu žmogaus serumu.

Po plovimo, kad būtų pašalinti nesureagavę baltymai, inkubuojama su konjugatu, sudarytu iš antižmogaus IgM monokloninių antikūnų, konjuguotų su krienų peroksidaze. Nesusijungęs konjugatas pašalinamas ir pridedamas peroksidazės substratas. Išsiskirianti mėlyna spalva yra proporcinga specifinių antikūnų koncentracijai serumo mėginyje.

Siekiant patvirtinti atsako specifiškumą, teigiamiems mėginiams atliekamas patvirtinamasis tyrimas: tiriamasis serumas iš anksto inkubuojamas su patvirtinamojo tyrimo reagentu (liofilizuotais neinfekuotais žmogaus fibroblastais), kad iš anksto absorbuojant būtų slopinamos galimos nespecifinės serumo reakcijos į ląstelių komponentus, užteršiančius ant

kietosios fazės padengtą CMV antigeną. Po preabsorbcijos mėginiai pakartotinai tiriami ELISA metodu, taikant anksčiau aprašytą metodą. Antras teigiamas rezultatas patvirtina, kad yra specifinių antikūnų.

Vienkartiniuose prietaisuose yra visi reagentai, reikalingi tyrimui atlikti, kai jie naudojami "Chorus/Chorus TRIO" prietaisuose. Rezultatai išreiškiami indeksu (OD mėginio/OD riba).

4. ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

TIK *IN VITRO* DIAGNOSTIKAI

Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės medžiagų, kurios buvo ištirtos FDA patvirtintais metodais dėl HBsAg ir anti-HIV-1, anti-HIV-2 ir anti-HCV antikūnų ir kurių atsakas buvo neigiamas. Kadangi joks diagnostinis testas negali suteikti visiškos garantijos dėl infekcijos sukėlėjų nebuvimo, su visomis žmogaus kilmės medžiagomis turi būti elgiamasi kaip su potencialiai infekcinėmis. Dirbant su žmogaus kilmės medžiaga, reikia laikytis visų atsargumo priemonių, kurios paprastai taikomos laboratorinėje praktikoje.

Atliekų šalinimas: panaudotus serumo mėginius, kalibratorius ir juosteles reikia laikyti infekciniais likučiais ir pašalinti pagal įstatymus.

Sveikatos ir saugos informacija

1. Negalima pipetuoti į burną.
2. Dirbdami su mėginiais mūvėkite vienkartinę pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones.
3. Kruopščiai nusiplaukite rankas po to, kai įdėjote prietaisus į "Chorus/Chorus TRIO" instrumentą.
4. Visą informaciją apie rinkinyje esančių reagentų saugą rasite atitinkamame medžiagos saugos duomenų lape (galima gauti paprašius).
5. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turėtų būti nukenksminamos įpilant pakankamą kiekį natrio hipochlorito, kad galutinė koncentracija būtų ne mažesnė kaip 1 %. Veiksmingam nukenksminimui užtikrinti gali prireikti 30 minučių veikti 1 % natrio hipochlorito tirpalu.
6. Išsiliejusias potencialiai užkrečiamas medžiagas reikia nedelsiant pašalinti adsorbicine popierine servetėle, o prieš tęsiant darbą užterštą vietą nupurkšti, pavyzdžiui, 1 % natrio hipochloritu. Natrio hipochlorito negalima naudoti rūgščių turinčių medžiagų išsiliejimams, nebent išsiliejimo vieta prieš tai būtų sausiai nušluostyta. Medžiagos, naudojamos išsiliejimams valyti, įskaitant pirštines, turėtų būti šalinamos kaip potencialiai biologiškai pavojingos atliekos. Negalima autoklavuoti medžiagų, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito.

Analitinės atsargumo priemonės

Prieš naudodami prietaisus palaikykite kambario temperatūrą (18-30 °C); panaudokite per 60 min.

1. Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) yra mėlynos spalvos.

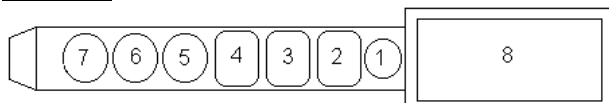
- Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
- Patikrinkite, ar prietaise yra reagentų ir ar prietaisas nepažeistas; nenaudokite prietaisų, kuriuose trūksta reagento ir (arba) reakcijos duobutėje yra pašalinių kūnų.
- Šie prietaisai skirti naudoti su "Chorus/Chorus TRIO" instrumentu; būtina atidžiai laikytis naudojimo instrukcijos ir susipažinti su instrumento naudojimo vadovu.
- Patikrinkite, ar "Chorus/Chorus TRIO" instrumentas nustatytas teisingai (žr. naudojimo instrukciją).
- Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas teisingai nuskaitytų duomenis.
- Mėginiams laikyti nenaudokite savaime užšalusių šaldiklių.
- Sugedusius brūkšninius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu (žr. naudojimo instrukciją).
- Laikydami ir naudodami prietaisus, nelaikykite jų stipriai apšviestų arba veikiamų hipochlorito garų.
- Klaidos šaltinis gali būti stipriai hemolizuotų, lipeminių, ikterinių mėginių, nevysiškai koagulioto serumo arba mėginių, užterštų mikrobais, naudojimas.
- Nenaudokite prietaiso pasibaigus galiojimo laikui.
- Įsitikinkite, kad prietaisas prijungtas prie plovimo buferio (nuoroda 83606).**

5. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimams atlikti.

DD | RENGINIAI 6 pakuotės, kurių kiekvienoje yra 6 įrenginiai

Aprašymas:



8 pozicija: vieta brūkšninio kodo etiketei klijuoti

7 pozicija: PATVIRTINAMOJO TYRIMO REAGENTO šulinys

6 pozicija: MIKROPLOKŠTŲ ŠULINUKAS

padengtos citomegaloviruso antigenų, gautu iš žmogaus fibroblastų, infekuotų iš dalies išgrynintu ir inaktyvuotu citomegalovirusu, kultūros.

5 pozicija: nepadengta MIKROPLOKŠTĖS ŠULINUKAS

4 pozicija: TMB SUBSTRATE

Turinys: Tetrametilbenzidinas 0,26 mg/ml ir H₂O₂ 0,01% stabilizuotas 0,05 mol/l citrato buferiniame tirpale (pH 3,8).

3 pozicija: pavyzdinis skiedinys

Turinys: Tirpalas, kurio sudėtyje yra antižmogaus IgG antikūnų, 0,05 % fenolio, 0,02 % bronidokso ir indikatorius serumo buvimui nustatyti.

2 pozicija: CONJUGATE

Sudėtis: antižmogaus IgM monokloniniai antikūnai, žymėti krienų peroksidazės tirpalu, fosfatiniame buferiniame tirpale, kuriame yra 0,05 % fenolio ir 0,02 % bronidokso.

1 pozicija: tuščias šulinys

į kurį operatorius turi įdėti neskiesto serumo

Naudojimas: išlyginkite pakuotę kambario temperatūroje, atidarykite pakuotę ir išimkite reikiamus prietaisus; kitus

pakeiskite silikageliu, išstumkite orą ir **uždarykite** paspausdami užraktą. Laikykite 2-8 °C temperatūroje.

PATVIRTINAMASIS TESTAS PATVIRTINAMASIS TESTAS REAGENTAS

Turinys: Sudėtis: liofilizuotas antigenas, gautas iš neužkrėstų ląstelių kultūros.

Naudojimas: perskaitykite 10.1 punkte nurodytą procedūrą.

KALIBRATORIUS KALIBRATORIUS 1 x 0,175 ml

Turinys: Atskiestas žmogaus serumas, kuriame yra IgM antikūnų prieš citomegalovirusą ir konservantas. Skystas, paruoštas naudoti.

KONTROLĖ + POZITYVIOJI KONTROLĖ 1 x 0,425 ml

Turinys: Atskiestas žmogaus serumas, kuriame yra IgM antikūnų prieš citomegalovirusą ir konservantas. Skystas, paruoštas naudoti.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS:

- PLOVIMO BUFERIS **REF** 83606
- VALYMO TIRPALAS 2000 **REF** 83609
- DEZINFEKAVIMO TIRPALAS **REF** 83604 - 83608
- CHORAS NEIGIAMA KONTROLĖ / MĖGINIO SKIEDIKLIS **NR.** 83607
- Choras / choras TRIO Instrumentas
- Distiliuotas arba dejonizuotas vanduo
- Įprasti laboratoriniai stiklo indai: cilindrai, mėgintuvėliai ir kt.
- Mikropipetės tiksliai 50-200 µl tirpalo surinkimui
- Vienkartinės pirštinės
- Natrio hipochlorito tirpalas (5 %)
- Konteineriai potencialiai užkrečiamoms medžiagoms rinkti

6. REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentai turi būti laikomi 2/8 °C temperatūroje. Jei reagentai laikomi netinkamoje temperatūroje, kalibravimas turi būti pakartotas, o bandymas patvirtintas naudojant kontrolinį serumą (žr. 9 skyrių "Tyrimo patvirtinimas").

Galiojimo data yra išspausdinta ant kiekvieno komponento ir rinkinio etiketėje.

Atidarius reagentus, jų stabilumas yra ribotas:

IRENGINIAI	8 savaitės	2/8 °C
	temperatūroje	
KALIBRATORIUS	8 savaitės	2/8 °C
	temperatūroje	
TEIGIAMA	8 savaitės	2/8 °C
KONTROLĖ	temperatūroje	
PATVIRTINAMOJO TYRIMO REAGENTAS	8 savaitės	2/8 °C
	temperatūroje	

7. MĖGINIŲ RINKIMAS IR SAUGOJIMAS

Mėginį sudaro serumas, paimtas įprastu būdu iš venos ir apdorotas laikantis visų atsargumo priemonių, nustatytų pagal gerą laboratorinę praktiką.

Galimos pasekmės, jei būtų naudojami kiti biologiniai skysčiai, nėra žinomos.

Šviežias serumas gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje arba užšaldytas ilgesniam laikui -20 °C temperatūroje ir gali būti atšildytas ne daugiau kaip 3 kartus.

Nelaikykite mėginių šaldikliuose su automatinio atšildymo funkcija. Prieš naudojimą atitirpintus mėginius reikia kruopščiai suplakti.

Dėl terminio nukenksminimo rezultatai gali būti klaidingi. Mėginio kokybei didelę įtaką gali turėti mikrobinis užterštumas, dėl kurio gaunami klaidingi rezultatai.

8. TYRIMO PROCEDŪRA

1. Atidarykite pakuotę (iš tos pusės, kurioje yra slėginė sklendė), išimkite reikiamą prietaisų skaičių, o likusius, išleidę orą, užklijuokite maišelyje.
2. Patikrinkite prietaiso būklę pagal 4 skyriuje "Analizės atsargumo priemonės" pateiktus nurodymus.
3. Į duobutę Nr. 3 įpilkite 50 µl neskiesto tiriamojo serumo. 1; kiekvieną kartą keičiant partiją, naudokite kalibratoriaus prietaisą.
4. Įdėkite prietaisus į Chorus/Chorus TRIO instrumentą. Atlikite kalibravimą (jei reikia) ir bandymą, kaip nurodyta prietaiso naudojimo vadove.

9. BANDYMŲ PATVIRTINIMAS

Naudokite kontrolinį serumą, kad patikrintumėte gautų rezultatų teisingumą. Jis turėtų būti naudojamas taip, kaip nurodyta prietaiso naudojimo vadove. Jei prietaisas signalizuoja, kad kontrolinio serumo vertė yra už leistino intervalo ribų, kalibravimas turi būti pakartotas. Ankstesni rezultatai bus automatiškai pakoreguoti.

Jei kontrolinio serumo rezultatas ir toliau neatitinka leistino intervalo, kreipkitės į mokslinę pagalbą.

Tel: 0039 0577 319554

Faksas: 0039 0577 366605

el: scientificsupport@diesse.it

10. REZULTATŲ AIŠKINIMAS

Choras / choras TRIO instrumentas išreiškia rezultatą Indeksas (OD mėginio/OD riba).

Ištirto serumo tyrimą galima interpretuoti taip:

TEIGIAMAS: kai rezultatas > 1,1

NEIGIAMAS: kai rezultatas yra < 0,9

RIBINIS: visoms reikšmėms nuo 0,9 iki 1,1

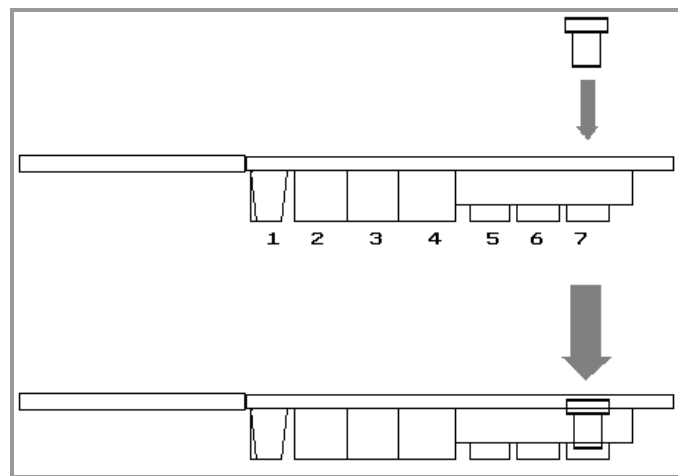
Jei rezultatas abejotinas arba dviprasmiškas, pakartokite tyrimą. Jei rezultatas išlieka abejotinas arba vienareikšmis, paimkite naują serumo mėginį.

Jei rezultatas teigiamas, atlikite patvirtinamąjį tyrimą naudodami patvirtinamojo tyrimo reagentą.

10.1 PATVIRTINIMO BANDYMO PROCEDŪRA

1. Atidarykite pakuotę su patvirtinamuoju reagentu, išimkite tyrimui atlikti reikalingą duobučių skaičių, likusias duobutes sudėkite į pakuotę ir užklijuokite lipnia juosta.
2. Į 7 prietaiso vietą įdėkite šulinį su liofilizuotu reagentu, gerai prispausdami jį prie dugno (žr. 1 pav.).
3. Plastikiniu kirtikliu padarykite dvi skylutes reagentą dengiančioje plėvelėje.
4. Į duobutę, kurioje yra liofilizuotas reagentas, įpilkite 50 µl tiriamojo mėginio, kurį reikia patvirtinti.
5. Prieš maišydami palaukite 5 minutes, tada **labai lėtai** 2-3 kartus sumaišykite pipete.
6. Į prietaiso 1 duobutę išpilstykite 50 µl.
7. Įdėkite prietaisus į "Chorus" instrumentą. Atlikite bandymą, kaip nurodyta "Chorus" instrukcijų vadove.
8. Interpretuokite rezultatus, kaip nurodyta 10 dalyje.

1 pav.



11. APRIBOJIMAI

Visas gautas vertes reikia atidžiai interpretuoti, atsižvelgiant į kitus su pacientu susijusius rodiklius.

Dėl visų įgimtos infekcijos serologinės diagnostikos komplikacijų, viruso išskyrimas iš šlapimo pirmąją gyvenimo savaitę išlieka geriausias būdas diagnozuoti intrauterinę infekciją. CMV specifinio IgM nebuvimas neatmeta CMV infekcijos galimybes. Pranešama, kad 10-30 % kūdikių gali neišsivystyti CMV IgM antikūnų atsakas, nepaisant įgimtos CMV infekcijos.

Tyrimas negali būti naudojamas vien tik klinikinei diagnozei nustatyti, todėl tyrimo rezultatas turi būti vertinamas kartu su paciento anamneze ir kitais klinikinės diagnostikos duomenimis.

12. ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS

36 mėginiai, kuriuose yra:

Reumatoidinis faktorius (20)

Bilirubinas (2,9 mg/dl - 24,9 mg/dl) (7)

Trigliceridai (356 mg/dl) (1)

Hemoglobinas (8)

buvo išbandyta.

Jei serumo mėginyje yra pirmiau aprašytų trukdančiųjų medžiagų, tai neturi įtakos tyrimo rezultatui.

13. KRYŽMINĖS REAKCIJOS

Buvo ištirta 18 mėginių, teigiamų Epstein-Barr, Varicella ir Herpes simplex virusams.

Reikšmingų kryžminių reakcijų nenustatyta.

14. METODO PALYGINIMAS

Atliekant eksperimentą 138 mėginiai buvo ištirti su Diesse rinkiniu ir konkuruojančiu rinkiniu.

Duomenys apibendrinti šioje lentelėje:

		Nuoroda		
		+	-	Iš viso
	+	20	2	22
	-	0	116	116
Diesse	Iš viso	20	118	138

Procentinis teigiamas sutikimas (~ diagnostinis jautrumas):

100 % $CI_{95\%}$: 83,9-99,8

Neigiamo sutikimo procentas: (~Diagnostinis specifiškumas):

98,3% $CI_{95\%}$: 94,0-99,5

Abiejų metodų suderinamumas yra puikus - Coheno kappa lygus 0,96.

15. TIKSLUMAS IR PAKARTOJAMUMAS

Pavyzdys	Trukmės tikslumas		Tikslumas tarp ciklų	
	Vidutinis Indeksas	CV%	Vidutinis Indeksas	CV%
1	0.3	16.7	0.3	16.7
2	0.6	8.3	0.6	10.0
3	0.8	8.8	0.8	7.5
4	1.2	10.0	1.1	8.2
5	1.3	6.9	1.4	10.0
6	1.6	6.3	1.7	8.8

7	2.5	5.2	2.5	10.0
8	2.9	6.2	2.7	9.3

Pavyzdys	Tikslumas tarp partijų ir (arba) instrumentų	
	Vidutinis Indeksas	CV%
1	0.3	16.7
2	0.5	8.0
3	0.8	11.3
4	1.1	8.2
5	1.3	11.5
6	1.6	10.0
7	2.3	9.6
8	2.6	9.2

16. NUORODOS

1. G. B. Išmintis: W. Wisd. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. H. O. Kangro: K. H. Khor: citomegaloviruso serologinis tyrimas: ar jis duoda atsakymą? Serodiagnostika ir imunoterapija 1: 91 (1987).
3. Grint P.C.A. ir kt.: Penkis komercinius produktus įvertino penki citomegaloviruso antikūnų atrankos testai. J. Clin. Pathol. 38: 1059 (1985).
4. M. Musiani ir kt.: M. Musiani M. Muzini: Greitas antikūnų prieš citomegaloviruso sukeltus ankstyvuosius ir ankstyvuosius antigenus nustatymas naudojant fermentinį imunisorbentinį tyrimą. J. Clin. Pathol. 37: 122 (1984).
5. F. de Ory ir kt.: Citomegalovirusinės infekcijos serologinė diagnostika: šešių komercinių ELISA metodų palyginimas. Serodiagnostika ir imunoterapija 2: 423 (1988).
6. P. Dal Monte ir kt.: Citomegalovirus umano. Diagnozė 2: 67 (1990).
7. R. Zieglermaier ir kt.: la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980).

	EN IT DE ES CS	Date of manufacture Data di fabbricazione Herstellungsdatum Fecha de fabricación Datum výroby	FR EL PL RO LT	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data produkcji Pagaminimo data
	EN IT DE ES CS	Use By Utilizzare entro Verwendbar bis Fecha de caducidad Použijte do	FR EL PT PL RO LT	Utiliser jusqu'à Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Zużyć do dnia A se folosi până la Naudoti iki
	EN IT DE ES CS	Do not reuse Non riutilizzare Nicht wieder verwenden No reutilizar Nepoužívejte znovu	FR EL PT PL RO LT	Ne pas réutiliser Μην κάνετε επαναληπτική χρήση Não reutilizar Nie używać ponownie A nu se refolosi Nenaudokite pakartotinai
	EN IT DE ES CS	Caution, consult accompanying documents Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen Atención, ver instrucciones de uso Pozor, řiďte se návodem k použití	FR EL PT PL RO LT	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Uwaga, patrz instrukcja obsługi Atentie, consultați documentele însoțitoare Atsargiai, susipažinkite su pridėtamais dokumentais
	EN IT DE ES CS	Manufacturer Fabbricante Hersteller Fabricante Výrobce	FR EL PT PL RO LT	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producent Productator Gamintojas
	EN IT DE ES CS	Contains sufficient for <n> tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Inhalt reicht für „n“ Tests Contenido suficiente para <n> ensayos Dostatečný obsah pro „n“ testů	FR EL PT PL RO LT	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Wystarczająca ilość materiału do „(liczby)” badań Continut suficient pt <n> teste Turi pakankamai <n> testų
	EN IT DE ES CS	Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturgrenzwerte Límite de temperatur Limity teploty	FR EL PT PL RO LT	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Granice temperatury Limita da temperatura Temperatūros apribojimas
	EN IT DE ES CS	Consult Instructions for Use Consultare le istruzioni per l'uso Die Gebrauchsanleitung lesen Consulte las instrucciones de uso Řiďte se návodem k použití	FR EL PT PL RO LT	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Należy zapoznać się z instrukcją obsługi Pentru utilizare consultați instrucțiunile Žiūrėkite naudojimo instrukcijas
	EN IT DE ES CS	Biological risks Rischio biológico Biologische Gefahr Riesgo biológico Biologické riziko	FR EL PT PL RO LT	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico Zagrożenie biologiczne Risc biologic Biologinė rizika
	EN IT DE ES CS	Catalogue number Numero di catalogo Katalognummer Número de catálogo Číslo katalogu	FR EL PT PL RO LT	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numer katalogowy Numar de catalog Katalogo numeris
	EN IT DE ES CS	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Medizinisches In-vitro-Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Zdravotnický nástroj k diagnostice in vitro	FR EL PT PL RO LT	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro In vitro diagnostikos medicinos prietaisas

	EN IT DE ES CS	Batch code Codice del lotto Chargennummer Código de lote Kód šarže	FR EL PT PL RO LT	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Kod partii Lot Partijos kodas
	EN IT DE ES CS	CE marking of conformity Marcatura CE di conformità CE-Konformität Skenneichnung Marcado CE de conformidad Označení shody CE	FR EL PT PL RO LT	Marquage de conformité CE Σημανση συμμορφωσης CE Marcação CE de conformidade Oznakowanie zgodności CE Marcajul de conformitate CE CE ženklinimas