

CHORUS

Diphtheria IgG


DIESSE
DIESSE
REF 81266
REF 81266/12

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

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





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Diphtheria IgG

**Per la determinazione quantitativa degli anticorpi
IgG anti-tossina difterica**

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-tossina difterica nel siero e plasma umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La Difterite è una malattia infettiva batterica che si verifica prevalentemente durante l'infanzia. La malattia, in particolare, comporta infiammazione della faringe, della laringe e della mucosa nasale. Inoltre, le tossine batteriche causano danni a lunga distanza al cuore, alla circolazione ed al sistema nervoso centrale. Solo i ceppi tossigeni sono patogeni.

L'agente eziologico è il *Corynebacterium diphtheriae*.

A seconda della fase della malattia, ne possono essere distinti 3 tipi: leggero, medio e grave.

La comparsa di difterite mostra una prevalenza stagionale con la massima incidenza in inverno e soprattutto i bambini non vaccinati sono infettati.

Nella maggior parte dei casi, i bambini sono vaccinati (DTP = Difterite-Tetano-Pertosse) dopo il terzo mese di vita. Lo stato di immunità può essere monitorato mediante la determinazione della concentrazione delle IgG.

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

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

I risultati sono espressi in milli Unità Internazionali (mIU/ml) calcolate in riferimento a "Who Reference Preparation 04/496".

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81266).

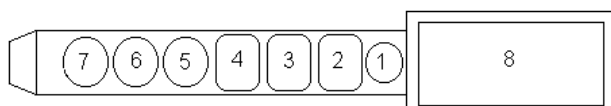
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81266/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81266).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81266/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anatossina difterica

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 sodio azide 0.09%.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il campione non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella

busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-tossina difterica e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-tossina difterica 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
- 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 controllo positivo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

Il campione fresco può essere mantenuto per 7 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Il campione non può essere congelato e scongelato ripetutamente.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

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

8. PROCEDIMENTO

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

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

- Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
- Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di campione non diluito da analizzare. Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
- 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 controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo 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 milli Unità Internazionali (mIU/ml) (Who Reference Preparation 04/496), calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

<10 mIU/mL	si raccomanda vaccinazione di base
10-100 mIU/mL	si raccomanda un vaccino di richiamo
>100 mIU/mL	si considera protetto

Attenzione: ignorare la refertazione qualitativa N; D/E; P dello strumento.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 10-2000 mIU/ml

13. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Bilirubina (1.9 mg/dl – 30 mg/dl)
 Trigliceridi (31 mg/dl – 500 mg/dl)
 Emoglobina (0.5 mg/ml – 8 mg/ml)

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

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 119 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		Immune	Not immune	Totale
Diesse	Immune	95	0	95
	Non immune	0	24	24
	Totale	95	24	119

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 86.2-99.8

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 1.0.

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta	
	Media (mIU/ml)	CV%
1	83.5	6.5
2	277.3	4.7
3	325.2	9.1
4	396.6	12.9
5	1668.7	12.1

Campione	Tra sedute	
	Media (mIU/ml)	CV%
1	76.8	11.9
2	301.6	6.9
3	311.9	7.7
4	324.7	12.6
5	1625.8	12.2

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (mIU/ml)	CV%	Media (mIU/ml)	CV%
1	82.6	12.0	76.8	13.6
2	283.7	10.1	313.4	8.6
3	303.1	4.2	293.7	9.4
4	385.8	9.7	315.6	11.0
5	1554.9	9.0	1478.7	13.2

16. BIBLIOGRAFIA

- Bell, F. et al. Combined diphtheria, tetanus, pertussis and Haemophilus influenzae type b vaccines for primary immunisation; Archives of Disease in Childhood; 75: 298-303 (1996).
- Zasada, A. et al. Seroprevalence of diphtheria toxoid IgG antibodies in children, adolescents and adults in Poland; BMC Infectious Diseases; 13: 551(2013.)
- Frank, J.W. et al. Diphtheria overimmunization in children. Can. Med. Assoc. J., 141: 1241 (1989).
- Lau, R.C. Detection of diphtheria toxin antibodies in human sera by ELISA. J. Hyg., 96: 415 (1986).
- Melville-Smith, M. et al. Estimation of diphtheria antitoxin in human sera by ELISA. J. Med. Microbiol., 25: 279 (1988).
- World Health Organization. The immunological basis for immunization series; module 2: Diphtheria – Update 2009. WHO Library Cataloguing (2009).



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Diphtheria IgG

For the quantitative determination of anti-Diphtheria toxin IgG antibodies

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

Diphtheria is a bacterial infectious disease which appears predominantly during the childhood. The disease leads particularly to an inflammation of the pharynx, larynx and nasal mucosa. Additionally, bacterial toxins cause via long-distance effect damages of the heart, circulation and CNS. Only the toxigenic strains are pathogenic.

The etiologic agent is the *Corynebacterium diphtheriae*.

Depending on the stage of disease, the three types 'slight, middle and serious' can be distinguished.

The appearance of Diphtheria shows a seasonal prevalence with the greatest incidence in winter. Especially non-vaccinated children will be infected.

In most cases children will be vaccinated (DTP = Diphtheria-Tetanus-Pertussis) after the third month of life. The state of immunity can be monitored by determining the IgG concentration.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

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

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

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

The results are expressed in milli-International Units (mIU/ml) calculated in reference to "Who Reference Preparation 04/496".

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

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

The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the

table published on Diesse website (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81266).

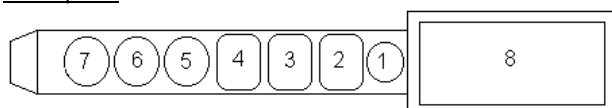
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81266/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 81266).

2 packages each containing 6 devices (REF 81266/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with Diphtheria Toxoid antigen

Position 5: MICROPLATE WELL

Uncoated

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 sodium azide 0.09%

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted sample

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing anti-Diphtheria toxin IgG antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing anti-Diphtheria toxin IgG antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- Chorus/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 positive control (see section 9, Test validation).

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

The fresh sample may be stored for 7 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

Freeze-thawing cycles have to be avoided.

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 50 µl of undiluted test sample 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 positive control to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the Instrument Operating Manual. If the instrument signals that the positive control has a value outside the acceptable range, the

calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

If the result of the positive control 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 milli-International Units (mIU/ml) (Who Reference Preparation 04/496), calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

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

<10 mIU/mL	Basic immunisation recommended
10-100 mIU/mL	Booster vaccination recommended
>100 mIU/mL	Good immunity

Attention: do not consider the qualitative report N; D/E; P on the instrument.

11. LIMITATIONS

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

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 10-2000 mIU/ml

13. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Bilirubin (1.9 mg/dl – 30 mg/dl)
 Triglycerides (31 mg/dl – 500 mg/dl)
 Hemoglobin (0.5 mg/ml – 8 mg/ml)

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

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 119 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		Immune	Not immune	Total
Diesse	Immune	95	0	95
	Not immune	0	24	24
	Total	95	24	119

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100% CI_{95%}: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI_{95%}: 86.2-99.8

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 1.0.

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run	
	Mean (mIU/ml)	CV%
1	83.5	6.5
2	277.3	4.7
3	325.2	9.1
4	396.6	12.9
5	1668.7	12.1

Sample	Between run	
	Mean (mIU/ml)	CV%
1	76.8	11.9
2	301.6	6.9
3	311.9	7.7
4	324.7	12.6
5	1625.8	12.2

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (mIU/ml)	CV%	Mean (mIU/ml)	CV%
1	82.6	12.0	76.8	13.6
2	283.7	10.1	313.4	8.6
3	303.1	4.2	293.7	9.4
4	385.8	9.7	315.6	11.0
5	1554.9	9.0	1478.7	13.2

16. REFERENCES

- Bell, F. et al. Combined diphtheria, tetanus, pertussis and Haemophilus influenzae type b vaccines for primary immunisation; Archives of Disease in Childhood; 75: 298-303 (1996).
- Zasada, A. et al. Seroprevalence of diphtheria toxoid IgG antibodies in children, adolescents and adults in Poland; BMC Infectious Diseases; 13: 551(2013.)
- Frank, J.W. et al. Diphtheria overimmunization in children. Can. Med. Assoc. J., 141: 1241 (1989).
- Lau, R.C. Detection of diphtheria toxin antibodies in human sera by ELISA. J. Hyg., 96: 415 (1986).
- Melville-Smith, M. et al. Estimation of diphtheria antitoxin in human sera by ELISA. J. Med. Microbiol., 25: 279 (1988).
- World Health Organization. The immunological basis for immunization series; module 2: Diphtheria – Update 2009. WHO Library Cataloguing (2009).



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Diphtheria IgG

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG antitoxina diftérica

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG antitoxina diftérica en suero y plasma humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La difteria es una enfermedad infecciosa de origen bacteriano que generalmente se presenta en la infancia. En especial, la enfermedad produce inflamación de la faringe, de la laringe y de la mucosa nasal. Además, las toxinas bacterianas causan daños a largo plazo al corazón, a la circulación y al sistema nervioso central. Solo las cepas toxigénicas son patógenas. El agente etiológico es el *Corynebacterium diphtheriae*.

Dependiendo de la fase de la enfermedad, se puede distinguir tres tipos de difteria: leve, media y grave.

La aparición de la difteria muestra una variación estacional con incidencia máxima en invierno y con predominancia de infecciones en niños no vacunados.

En la mayoría de casos los niños se vacunan (DTP = Difteria-Tétanos-Tosferina) después del tercer mes de vida. El estado de inmunidad puede monitorizarse determinando la concentración de las IgG.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Diphtheria IgG está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG antitoxina diftérica, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

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

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

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 mili Unidades Internacionales (mIU/ml) calculadas con referencia a "Who Reference Preparation 04/496".

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

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

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.

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

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81266).

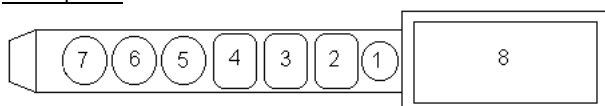
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81266/12).

DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81266).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81266/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anatoxina diftérica

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 ázida sódica 0.09%

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa la muestra sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 ml**

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG antitoxina diftérica y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 0.425 ml**

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG antitoxina diftérica 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
- 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 control positivo (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

La muestra recién obtenida se puede conservar a 2/8°C durante 7 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

La muestra no se puede congelar y descongelar repetidamente.

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

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de muestra no diluida 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 control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el 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 control positivo 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 mili Unidades Internacionales (mIU/ml) (Who Reference Preparation 04/496) calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

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

<10 mIU/mL	se recomienda vacunación de base
10-100 mIU/mL	se recomienda una vacuna de refuerzo
>100 mIU/mL	se considera protegido

Cuidado: ignorar la información cualitativa N; D/E; P del equipo.

11. LIMITACIONES

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

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 10-2000 mIU/ml.

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

3 muestras fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Bilirrubina (1.9 mg/dl – 30 mg/dl)
 Triglicéridos (31 mg/dl – 500 mg/dl)
 Hemoglobina (0.5 mg/ml – 8 mg/ml)

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

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 119 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		Inmune	No inmune	Total
Diesse	Inmune	95	0	95
	No inmune	0	24	24
	Total	95	24	119

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 86.2-99.8

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.0.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO	
	Media (mIU/ml)	CV%
1	83.5	6.5
2	277.3	4.7
3	325.2	9.1
4	396.6	12.9
5	1668.7	12.1

Muestra	ENTRE ENSAYOS	
	Media (mIU/ml)	CV%
1	76.8	11.9
2	301.6	6.9
3	311.9	7.7
4	324.7	12.6
5	1625.8	12.2

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (mIU/ml)	CV%	Media (mIU/ml)	CV%
1	82.6	12.0	76.8	13.6
2	283.7	10.1	313.4	8.6
3	303.1	4.2	293.7	9.4
4	385.8	9.7	315.6	11.0
5	1554.9	9.0	1478.7	13.2

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Bell, F. et al. Combined diphtheria, tetanus, pertussis and Haemophilus influenzae type b vaccines for primary immunisation; Archives of Disease in Childhood; 75: 298-303 (1996).
2. Zasada, A. et al. Seroprevalence of diphtheria toxoid IgG antibodies in children, adolescents and adults in Poland; BMC Infectious Diseases; 13: 551(2013.)
3. Frank, J.W. et al. Diphtheria overimmunization in children. Can. Med. Assoc. J., 141: 1241 (1989).
4. Lau, R.C. Detection of diphtheria toxin antibodies in human sera by ELISA. J. Hyg., 96: 415 (1986).

5. Melville-Smith, M. et al. Estimation of diphtheria antitoxin in human sera by ELISA. J. Med. Microbiol., 25: 279 (1988).
6. World Health Organization. The immunological basis for immunization series; module 2: Diphtheria – Update 2009. WHO Library Cataloguing (2009).



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





INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS Diphtheria IgG

Para a determinação quantitativa dos anticorpos IgG antitoxina diftérica

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação quantitativa dos anticorpos IgG antitoxina diftérica no soro e no plasma humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A Difteria é uma doença infecciosa bacteriana que se manifesta principalmente durante a infância. A doença provoca, nomeadamente, inflamação da faringe, laringe e mucosa nasal. Além disso, as toxinas bacterianas causam, a longo prazo, danos no coração, na circulação e no sistema nervoso central. Apenas as estirpes toxígenas são patogênicas.

O agente etiológico é o *Corynebacterium diphtheriae*.

Dependendo da fase a doença, ela pode ser de 3 tipos: ligeiro, médio e grave.

O aparecimento da difteria revela prevalência sazonal, com incidência máxima durante o inverno, sendo sobretudo infetadas as crianças não vacinadas.

Na maior parte dos casos, as crianças são vacinadas (DTP = Difteria-Tétano-Tosse convulsa) após o terceiro mês de vida. O estado de imunidade pode ser monitorizado por determinação da concentração das IgG.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Diphtheria IgG está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG antitoxina diftérica, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

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

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

O resultado é expresso em miliunidades Internacionais (mIU/ml) calculadas em referência a "Who Reference Preparation 04/496".

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

Advertências para a segurança individual

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

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

Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

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

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

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

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

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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81266).

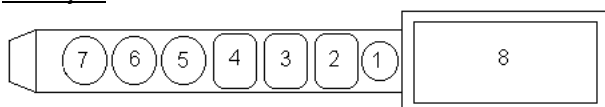
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81266/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81266).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81266/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com anatoxina diftérica

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica com azida de sódio a 0.09%.

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar a amostra não diluída.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL
Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG antitoxina diftérica e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 ml
Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG antitoxina diftérica 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)
- 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 controlo positivo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

A amostra fresca pode ser conservado durante 7 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C.

A amostra não pode ser congelada e descongelada repetidamente.

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

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

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 50 µl de amostra não diluída 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 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 controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar fora do intervalo de aceitação, contactar o Scientific Support.

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em miliunidades Internacionais (mIU/ml) (Who Reference Preparation 04/496), calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

O teste na amostra analisada pode ser interpretado como segue:

<10 mIU/mL	recomendada vacinação de base
10-100 mIU/mL	recomendada vacina de reforço
>100 mIU/mL	considerado protegido

Atenção: ignorar a determinação qualitativa N; D/E; P do equipamento.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 10-2000 mIU/ml.

13. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Bilirrubina (1.9 mg/dl – 30 mg/dl)
 Triglicéridos (31 mg/dl – 500 mg/dl)

Hemoglobina (0.5 mg/ml – 8 mg/ml)

A presença, na amostra em análise, das substâncias interferentes acima referidas não altera o resultado do teste.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 119 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

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

		Referência		
		Imune	Não imune	Total
Diesse	Imune	95	0	95
	Não imune	0	24	24
	Total	95	24	119

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):
 100% CI_{95%}: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):
 100% CI_{95%}: 86.2-99.8

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.0.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio	
	Média (mIU/ml)	CV%
1	83.5	6.5
2	277.3	4.7
3	325.2	9.1
4	396.6	12.9
5	1668.7	12.1

Amostra	Entre Ensaios	
	Média (mIU/ml)	CV%
1	76.8	11.9
2	301.6	6.9
3	311.9	7.7
4	324.7	12.6
5	1625.8	12.2

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (mIU/ml)	CV%	Média (mIU/ml)	CV%
1	82.6	12.0	76.8	13.6
2	283.7	10.1	313.4	8.6
3	303.1	4.2	293.7	9.4
4	385.8	9.7	315.6	11.0
5	1554.9	9.0	1478.7	13.2

16. BIBLIOGRAFIA












1. Bell, F. et al. Combined diphtheria, tetanus, pertussis and Haemophilus influenzae type b vaccines for primary immunisation; Archives of Disease in Childhood; 75: 298-303 (1996).
2. Zasada, A. et al. Seroprevalence of diphtheria toxoid IgG antibodies in children, adolescents and adults in Poland; BMC Infectious Diseases; 13: 551(2013.)
3. Frank, J.W. et al. Diphtheria overimmunization in children. Can. Med. Assoc. J., 141: 1241 (1989).
4. Lau, R.C. Detection of diphtheria toxin antibodies in human sera by ELISA. J. Hyg., 96: 415 (1986).

5. Melville-Smith, M. et al. Estimation of diphtheria antitoxin in human sera by ELISA. J. Med. Microbiol., 25: 279 (1988).
6. World Health Organization. The immunological basis for immunization series; module 2: Diphtheria – Update 2009. WHO Library Cataloguing (2009).



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



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