

# CHORUS



## Diphtheria IgG

**REF 81266**

**REF 81266/12**

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

	Chapitre Κεφάλαιο Section
Modifications apportées à la révision courante Τροποποιήσεις που εισήχθησαν στην τρέχουσα διόρθωση Changes introduced in the current revision	4





## INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

### CHORUS Diphtheria IgG

#### Pour la détermination quantitative des anticorps IgG antitoxine diphtérique

#### Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

##### 1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination quantitative des anticorps de classe IgG antitoxine diphtérique dans le sérum et plasma en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

##### 2. INTRODUCTION

La Diphtérie est une maladie infectieuse bactérienne qui survient essentiellement pendant l'enfance. Cette maladie comporte notamment une inflammation du pharynx, du larynx et de la muqueuse nasale. En outre, les toxines bactériennes provoquent à long terme des dommages du cœur, de la circulation et du système nerveux central. Seules les souches toxigènes sont pathogènes. L'agent étiologique est le *Corynebacterium diphtheriae*.

Selon la phase de la maladie, 3 différents types se distinguent : léger, moyen et grave.

L'apparition de diphtérie connaît un pic saisonnier, notamment pendant la saison hivernale et affecte essentiellement les enfants non vaccinés.

Dans la plupart des cas, les enfants sont vaccinés (DTP = Diphtérie-Tétanos-Coqueluche) après leurs trois mois. L'état d'immunité peut être surveillé par le biais de la détermination de la concentration des IgG.

##### 3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Diphtheria IgG est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG antitoxine diphtérique, 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.

Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène après incubation en présence d'échantillon dilué.

Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps anti-IgG 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 l'échantillon en examen.

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 milli Unités Internationales (mIU/ml) calculées en référence à "Who Reference Preparation 04/496".

#### 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, 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.

**L'utilisation du kit est possible seulement avec une version mise à jour. S'assurer que le logiciel installé dans le dispositif correspond ou qu'il ait une version (Rel.) supérieure de celle reportée dans le tableau publié sur le site internet Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)**

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 (REF 81266).

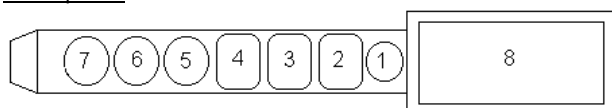
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81266/12).

#### DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81266).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81266/12).

Description :



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

**Position 7** : Vide

**Position 6** : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec anatoxine diphtérique

**Position 5** : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

**Position 4** : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine (à 0.26 mg/ml) et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 0.09% d'azide de sodium.

**Position 2** : CONJUGUÉ

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

**Position 1** : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer l'échantillon 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.

**CALIBRATOR** CALIBRATEUR **1 x 0.175 ml**

**Contenu** : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG antitoxine diphtérique et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

**CONTROL +** CONTRÔLE POSITIF **1 x 0.425 ml**

**Contenu** : Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG antitoxine diphtérique 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
- 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 de contrôle positif (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

#### 7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum et plasma 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.

L'échantillon frais peut être conservé pendant 7 jours entre 2 et 8°C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20°C.

L'échantillon ne doit pas être congelé et décongelé à plusieurs reprises.

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

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

## 8. PROCÉDURE

- 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.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
- Dispenser 50 µl de échantillon 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.
- 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 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 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 contrôle positif 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 milli Unità Internazionali (mIU/ml) (Who Reference Preparation 04/496), calculées sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Le test sur l'échantillon examiné peut être interprété de la manière suivante :

<10 mIU/mL	Une vaccination de base est recommandée
10-100 mIU/mL	Un rappel de vaccin est recommandé
>100 mIU/mL	Considéré comme protégé

**Attention : ignorer le compte-rendu qualitatif N ; D/E ; P de l'instrument.**

## 11. LIMITES DU TEST

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

En effet, 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. PLAGES D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 10-2000 mIU/ml.

## 13. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

3 échantillons ont été testés, auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Bilirubine (1.9 mg/dl – 30 mg/dl)  
Triglycérides (31 mg/dl – 500 mg/dl)  
Hémoglobine (0.5 mg/ml – 8 mg/ml)

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

## 14. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 119 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 :

		Référence		
		Immunisé	Non immunisé	Total
Diesse	Immunisé	95	0	95
	Non immunisé	0	24	24
	Total	95	24	119

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100% CI<sub>95%</sub>: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI<sub>95%</sub>: 86.2-99.8

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 1.0.

## 15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE	
	Moyenne (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

Échantillon	INTER-SÉANCES	
	Moyenne (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

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (mIU/ml)	CV%	Moyenne (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. BIBLIOGRAPHIE

- 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.)

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)  
Italie





**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

## CHORUS Diphtheria IgG

**Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των  
αντισωμάτων IgG έναντι της διφθεριτικής  
τοξίνης**

**Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro***

### 1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG έναντι της διφθεριτικής τοξίνης στον ανθρώπινο ορό και πλάσμα με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

### 2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διφθερίτιδα είναι μια λοιμώδης βακτηριακή νόσος που προσβάλλει κατά κύριο λόγο τα παιδιά. Η νόσος προκαλεί κυρίως φλεγμονή του φάρυγγα, του λάρυγγα και του ρινικού βλεννογόνου. Επιπλέον, οι βακτηριακές τοξίνες προκαλούν μακροπρόθεσμες βλάβες στην καρδιά, στο κυκλοφορικό σύστημα και στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Μόνο τα τοξινογόνα στελέχη είναι παθογόνα.

Αιτιολογικός παράγοντας είναι το κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας (*Corynebacterium diphtheriae*).

Το βακτήριο συναντάται σε 3 τύπους, ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου: ήπιο, ενδιάμεσο και βαρύ.

Ο επιπολασμός της διφθερίτιδας παρουσιάζει εποχικότητα με μέγιστη επίπτωση κατά τους χειμερινούς μήνες. Μολύνονται κυρίως τα παιδιά που δεν έχουν εμβολιαστεί.

Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, τα παιδιά εμβολιάζονται (DTP = Διφθερίτιδα-Τέτανος-Κοκκύτης) μετά τον τρίτο μήνα της ζωής τους. Η ανοσολογική κατάσταση μπορεί να παρακολουθείται με προσδιορισμό της συγκέντρωσης των αντισωμάτων IgG.

### 3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus Diphtheria IgG είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι της διφθεριτικής τοξίνης, στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες δεσμεύονται στο αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο δείγμα.

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

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων στο δείγμα που εξετάζεται.

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 σε χιλιοστά διεθνών μονάδων (mIU/ml) και υπολογίζονται με αναφορά το "Who Reference Preparation 04/496".

## 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, 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 συμβουλευτείτε 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 εγλυθηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. 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.



1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. 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.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. **Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που έχει εγκατασταθεί στον αναλυτή έχει την ίδια ή μεταγενέστερη ημ/νία έκδοσης (Rel.) από την αναφερόμενη ημ/νία στον κατάλογο που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)**
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. 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.
11. 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 kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81266).

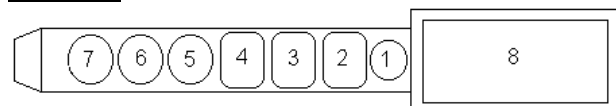
Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81266/12).

#### DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81266).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81266/12).

#### Περιγραφή:



**Θέση 8:** Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

**Θέση 7:** Κενή

**Θέση 6:** ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με διφθεριτική ανατοξίνη

**Θέση 5:** ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

**Θέση 4:** ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0.05 mol/L (pH 3.8)

#### Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα και αζίδιο νατρίου 0.09%

#### Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

#### Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ ο χειριστής πρέπει να τοποθετήσει το μη αραιωμένο δείγμα.

**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.

#### CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 ml

**Περιεχόμενο:** Διάλυμα ανθρώπινου ορού που εμπεριέχει αντισώματα IgG έναντι της διφθεριτικής τοξίνης και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

#### CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.425 ml

**Περιεχόμενο:** Διάλυμα ανθρώπινου ορού που εμπεριέχει αντισώματα IgG έναντι της διφθεριτικής τοξίνης 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
- 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 θετικού μάρτυρα (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

## 7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι ορός ή πλάσμα, που προέρχονται από αίμα που έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαράκέντηση και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

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

Το νωπό δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για 7 ημέρες στους 2/8°C; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C.

Το δείγμα δεν μπορεί να καταψύχεται και αποψύχεται επανειλημμένως.

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 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. Χορηγήστε, στην κυψελίδα αριθ.1 κάθε συσκευής, 50 μl μη αραιωμένου δείγματος προς 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 Χρήστη της συσκευής.

## 9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον θετικό μάρτυρα για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.

Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του μάρτυρα βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση.

Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του θετικού μάρτυρα 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 χιλιοστά διεθνών μονάδων (mIU/ml) (Who Reference Preparation 04/496), που υπολογίζονται βάσει ενός γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

Το τεστ του δείγματος υπό εξέταση μπορεί να ερμηνευτεί ως εξής:

<10 mIU/mL	συνιστάται βασικός εμβολιασμός
10-100 mIU/mL	συνιστάται αναμνηστική δόση
>100 mIU/mL	θεωρείται προστατευμένο

**Προσοχή:** αγνοήστε την ποιοτική αναφορά N, D/E, P της συσκευής.

## 11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

## 12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 10-2000 mIU/ml.

## 13. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 3 δείγματα στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Χολερυθρίνη (1.9 mg/dl – 30 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (31 mg/dl – 500 mg/dl)

Αιμοσφαιρίνη (0.5 mg/ml – 8 mg/ml)

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

## 14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 119 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		Ανοσοποιημένο	Μη ανοσοποιημένο	Σύνολο
Diesse	Ανοσοποιημένο	95	0	95
	Μη ανοσοποιημένο	0	24	24
	Σύνολο	95	24	119

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

100% CI<sub>95%</sub>: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100% CI<sub>95%</sub>: 86.2-99.8

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 1.0.

## 15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατα την διαδικασία	
	Μέση Τιμή (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



Δείγμα	Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή (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

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευιών	
	Μέση Τιμή (mIU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (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. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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





## 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).

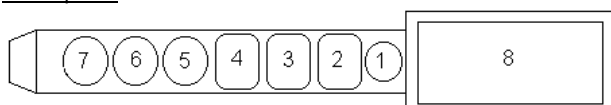
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81266/12).

#### 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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, 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. 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<sub>95%</sub>: 96.1-99.9

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI<sub>95%</sub>: 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



	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