

CHORUS



DIESSE

ADENOVIRUS IgA

REF
81198
REF
81198/12

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.

Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	5





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Adenovirus IgA

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgA anti-Adenovirus nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

CHORUS Adenovirus IgA

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgA anti-Adenovirus

Solo per uso diagnostico in vitro

2. INTRODUZIONE

Gli adenovirus sono particelle icosaedriche di 60-90 nm di diametro prive di involucro e provviste di proteine fibrose in corrispondenza di ciascun vertice, che ne facilitano l'attacco alle cellule bersaglio: tali dimensioni ne fanno i più grandi virus privi di involucro. Le loro dimensioni, tuttavia, ne rendono ugualmente possibile l'entrata all'interno delle cellule bersaglio attraverso i pori, senza dover ricorrere alla fusione degli involucri. Ad oggi, vengono riconosciuti cinquantuno sierotipi differenti di adenovirus umani, suddivisi in sei specie. I loro effetti sulla salute vanno dalle malattie respiratorie alla congiuntivite alla gastroenterite. Le infezioni da Adenovirus sono comuni e frequenti e la maggior parte di esse si contraggono nel periodo infantile. Esse decorrono spesso in modo latente, cosicché il virus può essere ancora rilevato nelle tonsille dopo due anni dall'infezione. Il virus viene eliminato all'esterno con la saliva e le feci e si introduce all'interno dell'organismo umano attraverso la bocca, il naso e la congiuntiva dell'occhio. Gran parte delle infezioni sono asintomatiche. Il 5% circa dei raffreddori in età infantile è causato da Adenovirus. Epidemie possono verificarsi tra persone che frequentano luoghi affollati. Le infezioni adenovirali possono essere diagnosticate mediante verifica diretta (coltivazione dell'agente patogeno o identificazione biochimica) o mediante analisi sierologiche. Nella routine quest'ultime sono rappresentate dalla fissazione del complemento (CFT) e dai test immunoenzimatici (ELISA). Generalmente vengono utilizzati preparati virali portanti prevalentemente epitopi genospecifici. La verifica della presenza dei sottotipi in caso di infezioni respiratorie attualmente non risulta necessaria dal punto di vista clinico.

Nella popolazione normale è verificabile un'elevata misura di sieropositività causata da infezioni con diversi sottotipi che

hanno avuto luogo già nella più giovane età infantile. Nel caso di un'infezione adenovirale acuta vengono verificati nei procedimenti sierologici classici aumenti significativi del titolo su coppie di siero prelevate a distanza di otto – dieci giorni. A seguito dello sviluppo di procedimenti di test ELISA è aumentata l'importanza della valutazione dei sieri singoli.

Sebbene la determinazione della risposta IgM abbia un valore diagnostico nelle infezioni primarie da virus influenzale, la risposta IgA, in combinazione con la risposta IgG, è la principale risposta immunitaria in pazienti con infezioni da Adenovirus.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Il test ELISA sfrutta la reazione tra anticorpi presenti nel campione testato e l'antigene immobilizzato su fasi solide di polistirolo.

Per incubazione con siero umano diluito le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-IgA umane coniugati con perossidasi di rafano.

Eliminato con il lavaggio il coniugato che non si è legato, si aggiunge il substrato per la perossidasi.

Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati allo strumento Chorus.

Il risultato è espresso in indice rispetto a un valore di cut off.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
4. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato ed i controlli contengono fenolo

b) Il substrato è acido

Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.

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.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
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, o campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
12. Pipettare il siero in esame (50 µL) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
13. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81198).

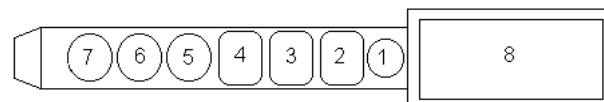
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81198/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81198).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81198/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene di Adenovirus

Posizione 5: POZZETTO

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 fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% ed un indicatore per rivelare la presenza di siero.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.175 mL

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

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.425 mL

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

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.

Rif. IO-09/250-C IFU 81198 – 81198/12 – Ed. 11.12.2018

- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µL
- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio. Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Dopo scongelamento agitare con cura prima del dosaggio. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati errati. Campioni fortemente lipemici, itterici o inquinati non possono essere utilizzati. Il test non può essere applicato al plasma.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel manuale d'uso dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre

effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus fornisce un risultato qualitativo in Indice rispetto a un valore cut-off (lotto dipendente – rapporto tra il valore in OD del campione e quello del cut-off) memorizzato dallo strumento.

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

POSITIVO: quando l'indice è > 1.1

NEGATIVO: quando l'indice è < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO. quando l'indice è compreso tra 0.9 e 1.1

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Il test non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica. Un risultato negativo non preclude l'eventualità di un'infezione. Sieri prelevati durante la fase acuta dell'infezione potrebbero risultare negativi con questa tecnica perché la sierconversione può richiedere settimane (3-4) dall'infezione per manifestarsi. In caso di positività, si consiglia l'analisi di un secondo campione prelevato 8-14 giorni più tardi, per verificare un eventuale aumento delle IgA. Il risultato del test deve essere comunque valutato insieme ai dati clinici e da altre procedure diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 11 campioni di sieri contenenti potenziali interferenti:

Trigliceridi (n=2)
PCR (n=7)
RF (n=2)

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

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione 81 campioni sono stati analizzati con kit Diesse e con altro kit del commercio; i campioni discordanti sono stati confermati usando un test in immunofluorescenza. Di seguito sono schematizzati i risultati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Totale	16	65	81

Sensibilità Diagnostica: 100.0 % CI_{95%}: 80.6 – 100.0
 Specificità Diagnostica: 95.4 % CI_{95%}: 87.3 – 98.4

14. PRECISIONE

PRECISIONE ALL'INTERNO DELLA SEDUTA

	Replicati	Media Index	D.S.	CV%
Lot 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Lot 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Lot 618-S	15	2.7	0.20	7.4

PRECISIONE TRA SEDUTE

	Campione	Media Index	D.S.	CV%
Lot 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Lot 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Lot 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A - il valore CV% è impossibile da calcolare perché la media è 0 (divisione per 0)

15. BIBLIOGRAFIA

1. Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
2. Meier and Greber (2004). *Adenovirus endocytosis*. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
3. Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
4. Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
5. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601, (1999).
6. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI

	Data di fabbricazione
	Utilizzare entro
	Non riutilizzare
	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Limiti di temperatura
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Rischio biologico
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Codice del lotto



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Adenovirus IgA

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgA-class antibodies to *Adenovirus* in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

CHORUS Adenovirus IgA For the Qualitative Determination of IgA Antibodies to Adenovirus

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

2. INTRODUCTION

Adenoviruses are nonenveloped icosahedral particles of 60-90 nm in diameter with fiber proteins on each spike that facilitate the attack against the target cells: they represent the largest nonenveloped viruses. Because of their large size they are able to be transported inside the target cells through pores (envelope fusion is not necessary). Up to now, there are 51 described serotypes in humans, divided in 6 species. Most infections with adenovirus result in infections of the respiratory tract that range from conjunctivitis to gastroenteritis. Adenovirus infections are common and frequent and are mainly contracted during childhood. The course of these illnesses is often latent, for this reason the virus can still be detected in the tonsils two years after the contraction of the infection. The virus is transmitted by saliva and stools and is passed from one person to another through mouth, nose and eye.

Most of the infections are asymptomatic. About 5% of colds contracted by children are caused by Adenovirus. The virus can spread among people in crowded environments causing epidemics. Adenovirus infections can be detected through direct verification (pathogenic antigen growth or biochemical identification) or through serological analysis that are represented by complement fixation tests (CFT) and immunoassay tests (ELISA). Viral preparations mainly containing genospecific epitopes are generally used. Currently the verification of the presence of subtypes in case of respiratory infections does not result as necessary from a clinical point of view.

Among the normal population a high seropositivity can be verified and is caused by infections from different subtypes contracted during childhood. In case of an acute adenoviral

infection the normal serological procedures record significant increases of the titer on two sera collected at a distance of 8-10 days from each other. With the development of the ELISA test procedures the evaluation of single sera is acquiring importance.

Even though the IgM determination has a diagnostic value in cases of primary infections, the IgA determination, together with the IgG determination, represents the main immunitary response for patients with Adenovirus infections.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The test is based on the ELISA principle (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) which uses the reaction between the antibodies present in the tested sample and the immobilized antigen bound to solid phases of the polystyrene.

The immunoglobulins bind to the antigen through incubation with diluted human serum. After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation with the conjugate (anti-human IgA monoclonal antibodies conjugated with horse radish peroxidase) is performed. The conjugate which has not been bound is eliminated and the peroxidase substrate added.

The blue color which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the test serum.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments. The result is expressed as an INDEX (ratio between the OD value of the sample and that of the Cut-off).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instrument.
4. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate and controls contains phenol
 - b) The substrate is acid

If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.

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, 1.0% 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.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
5. Check that the Chorus instrument is set up correctly (see Chorus 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.
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed samples or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
12. Pipette the test serum (50 µL) in well 1 of the device (see figure).
13. Do not use the device after the expiry date.

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81198).

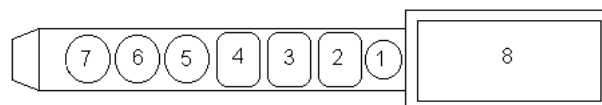
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81198/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 81198).

2 packages each containing 6 devices (REF 81198/12).

Description of device:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with Adenovirus 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 phenol 0.05%, Bronidox 0.02% and an indicator to reveal the presence of the serum.

Position 2: CONJUGATE

Contents: monoclonal antibodies anti-human IgA labeled with peroxidase in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 mL

Content: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 mL

Content: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. 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.

Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples cannot be used. The test cannot be applied to plasma.

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, points 1 and 8.
3. Dispense 50 µL of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the control serum to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the operating manual. If the instrument signals that the control serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected. If the result of the control serum continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus instrument expresses the result as an INDEX (lot-dependent - ratio between the OD value of the sample and that of the Cut-off) stored in the instrument.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the ratio is > 1.1
NEGATIVE: when the ratio is < 0.9
DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

In the case of a doubtful/equivocal result, repeat the test. If the test remains doubtful/equivocal, collect a new sample after 1-2 weeks.

11. LIMITATIONS

The test cannot be used as only method for a clinical diagnosis. Negative results may not exclude an eventual infection. Samples of serum taken during the acute stage of the infection could result negative with this method because the seroconversion can take weeks (3-4) until its reveal. In case of positive results, it is recommendable to analyze a second sample obtained 8-14 days later, in order to check a possible increase of the IgA-class antibodies. However, the test results should be interpreted with caution and used in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic procedures.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The following 11 samples containing potentially interfering substances were tested:

Triglycerides (n=2)
C-Reactive Protein (n=7)
Rheumatoid factor (n=2)

The presence in the tested serum of the interfering substances listed above did not alter the results of the test.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

81 samples were tested in an experimentation with DIESSE kit as well as with another commercial kit; the discordant samples were confirmed using an immunofluorescence test.

Below are the schematized data of the trial:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Total	16	65	81

Diagnostic Sensitivity: 100.0 % CI_{95%}: 80.6 – 100.0
Diagnostic Specificity: 95.4 % CI_{95%}: 87.3 - 98.4

14. PRECISION

WITHIN-RUN PRECISION

	Replicates	Mean	SD	CV%
Lot 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Lot 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Lot 618-S	15	2.7	0.20	7.4

BETWEEN-RUN PRECISION

	Sample	Mean	SD	CV%
Lot 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Lot 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Lot 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A – the CV% cannot be calculated because the mean corresponds to 0 (division by 0)

15. REFERENCES

1. Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
2. Meier and Greber (2004). *Adenovirus endocytosis*. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
3. Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
4. Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
5. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601, (1999).
6. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. GLOSSARY OF LABELING SYMBOLS

	Date of manufacture
	Use By
	Do not reuse
	Caution, consult accompanying documents
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation
	Consult instructions for use
	Biological risks
	Catalogue number
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Batch code



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Adenovirus IgA

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda sloužící ke kvalitativnímu stanovení protilátek třídy IgA proti *Adenoviru* v lidském séru, za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus a Chorus TRIO.

CHORUS Adenovirus IgA

Určeno ke kvalitativnímu stanovení
IgA protilátek proti adenoviru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

2. ÚVOD

Adenoviry jsou neobalené ikosaedrální částice o průměru 60–90 nm, které mají na každém hrotu vláknovou bílkovinu, která usnadňuje útok na cílové buňky. Reprezentují největší neobalené viry. Díky značné velikosti se mohou transportovat do cílových buněk póry (není nutná fúze obalu). Dosud bylo u člověka popsáno 51 serotypů, rozdělených na 6 druhů. Nejvíce adenovirových infekcí nalezneme u dýchacího ústrojí, kdy se jedná od konjunktivitidy po gastroenteritidu. Adenovirové infekce jsou běžným a častým onemocněním a k nákaze dochází převážně v dětském věku. Průběh těchto onemocnění je často skrytý, a proto lze tento virus stále detekovat v mandlích dva roky po infikování. Přenášejí se slinami a stolici, z osoby na osobu prostřednictvím úst, nosu a očí.

Většina infekcí je asymptomatických. Asi 5 % nachlazení u dětí má na svědomí adenovirus. Virus se může mezi lidmi šířit v zalidněných oblastech a působit epidemie. Adenovirové infekce je možné detekovat buďto přímou verifikací (růst patogenního antigenu nebo biochemická identifikace), nebo serologickou analýzou, kterou zastupují komplementní fixační testy (CFT) a imunoškoušky (ELISA). Obecně se využívá virových přípravků obsahujících především genospecifické epitopy. V současnosti ověření přítomnosti podtypů v případě respiračních infekcí není z klinického pohledu nezbytné.

V normální populaci lze prokázat vysokou seropozitivitu, která je následkem infekcí různými podtypy získanými v dětství. V případě akutních adenovirových infekcí zaznamenávají normální serologické postupy výrazný nárůst titru u dvou vzorků sér získaných v intervalu 8–10 dní. S vývojem testovacích procedur ELISA nabývá na významu vyhodnocení jediného séra.

Ačkoliv má stanovení IgM v případě primárních infekcí diagnostickou hodnotu, představuje stanovení IgA spolu s IgG hlavní imunitní odezvu u pacientů postižených adenovirovou infekcí.

3. PRINCIP ZKOUŠKY

Test je založen na principu ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), který využívá reakce mezi protilátkami přítomnými v testovaném vzorku a imobilizovaným antigenem vázaným na pevné fázi polystyrenu.

Prostřednictvím inkubace s naředěným lidským sérem se na antigen naváží imunoglobuliny. Po promytí, při kterém dojde k eliminaci bílkovin, které nereagovaly, se provede inkubace s konjugátem (anti-lidské monoklonální IgA protilátky konjugované s křenovou peroxidázou). Dochází k odstranění nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát. Vzniklé modré zabarvení je úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty nutné k provedení testu pomocí zařízení Chorus. Výsledek je vyjádřen jako INDEX (poměr mezi hodnotou OD vzorku a cut-off hodnotou).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS si důkladně umyjte ruce.
4. Následující reagenty obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých látek:
 - a) Konjugát a kontroly obsahují fenol.
 - b) Substrát obsahuje kyselinu.
 Přijde-li jakákoliv reagentie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlomanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je

nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.

6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1,0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevkláděte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagentie a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagentie, nepoužívejte.
4. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Ke skladování vzorků nepoužívejte samorozmrazovací mrazáky.
8. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Než do zařízení nástroje vložíte, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
12. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
13. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 81198).

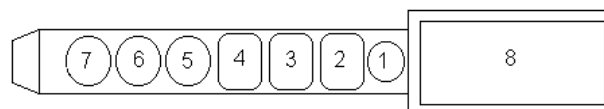
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 81198/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 81198).

2 balení po 6 nástrojích (REF 81198/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Místo pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

potažená antigenem *Adenoviru*

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetrametylbenzidin 0.26 mg/ml a 0.01% H₂O₂ stabilizovaný v 0.05 mol/l citrátovém pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující fenol 0.05%, Bronidox 0.02% a indikátor přítomnosti séra

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: peroxidázou značené monoklonální anti-lidské IgA protilátky ve fosfátovém pufru obsahujícím fenol 0.05% a Bronidox 0.02%

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA,

do níž obsluha umístí neředěné sérum

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.175 ml

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje Proclin a Gentamycin, tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0.425 ml

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje Proclin a Gentamycin, tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagentie je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagentie při nesprávné teplotě, je nutné

zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9, Validace testu).

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
POZ. KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8 °C

7. SBĚR VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Vzorek se skládá ze séra získaného běžným způsobem ze žíly, který byl ošetřen v souladu se všemi opatřeními předepsanými v rámci správné laboratorní praxe. Čerstvé sérum je možné skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C nebo zmrazit na delší období na teplotu -20 °C; rozmrazit se smí maximálně 3krát. Rozmrazené vzorky je třeba před použitím opatrně protřepat. Mikrobiální kontaminace může vážně poškodit kvalitu vzorku a vést k chybným výsledkům.

Nesmějí se používat silně lipemické, ikterické, hemolyzované ani kontaminované vzorky. Test nelze použít na plazmu.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Podle instrukcí pod body 1 a 8 uvedenými v kapitole 4 (Opatření pro správné provedení testu) zkontrolujte stav nástroje.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Nástroje umístěte do zařízení Chorus a proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle Návodu k obsluze zařízení Chorus.

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus vyjadřuje výsledek jako INDEX (na šarži závislý – poměr mezi OD hodnotou vzorku a cut-off hodnotou) uložený v zařízení.

Testované sérum se interpretuje takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.1.

NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.9.

SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.9 a 1.1.

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test opakujte. Zůstává-li sporný/nejednoznačný i nadále, seberte za 1–2 týdny vzorek nový.

11. OMEZENÍ

Test nelze použít jako jedinou metodu ke stanovení klinické diagnózy. Negativní výsledky nemusí vylučovat eventuelní infekci. Vzorky séra sebrané během akutní fáze infekce mohou touto metodou vyjít negativně, protože serokonverzi může trvat týdny (3–4), než se objeví. V případě pozitivních výsledků doporučujeme analyzovat druhý vzorek sebraný o 8–14 dní později, abyste zjistili možný nárůst protilátek IgA třídy. Výsledky testu je však nutné interpretovat pozorně a vždy v kombinaci s informacemi získanými z klinického vyhodnocení a jinými diagnostickými postupy.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Následujících 11 vzorků obsahujících potenciálně rušivé substance bylo otestováno:

Triglyceridy (n = 2)

C-reaktivní protein (n = 7)

Revmatický faktor (n = 2)

Přítomnost výše uvedených rušivých substancí v testovaném séru neměla žádný vliv na výsledek testu.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

V rámci pokusu bylo analyzováno 81 vzorků touto Diesse soupravou a další komerční metodou. Nesouhlasící výsledky byly potvrzeny imunofluorescenčním testem.

Níže jsou shrnuty výsledky tohoto pokusu:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Celkem	16	65	81

Diagnostická citlivost: 100.0 %

CI_{95%}: 80.6–100.0

Diagnostická specifičnost: 95.4 %

CI_{95%}: 87.3–98.4

14. PŘESNOST

PŘESNOST V RÁMCI MĚŘENÍ

	Replikát y	Průmě r	Stand. odchylka	CV %
Šarže 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Šarže 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Šarže 618-S	15	2.7	0.20	7.4

PŘESNOST MEZI MĚŘENÍMI

	Vzorek	Průměr	Stand. odchylka	CV %
Šarže 616-S	Standard 1	0.3	0.00	Nedost
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Šarže 617-S	Standard 1	0.3	0.00	Nedost
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Šarže 618-S	Standard 1	0.3	0.00	Nedost
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

Nedostupný – CV % nelze spočítat, protože průměr odpovídá 0 (dělení 0).

15. POUŽITÁ LITERATURA

1. Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
2. Meier and Greber (2004). *Adenovirus endocytosis*. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
3. Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
4. Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
5. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601, (1999).
6. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. GLOSÁŘ POUŽITÝCH SYMBOLŮ

	Datum výroby
	Použitelné do
	Nepoužívejte opakovaně
	Pozor, čtěte příložené dokumenty
	Výrobce
	Obsah stačí na < n > testů
	Teplotní omezení
	Čtěte návod k použití
	Biologická rizika
	Katalogové číslo
	Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Kód šarže



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Adenovirus IgA

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung der Anti-Adenovirus-IgA-Antikörper im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

CHORUS Adenovirus IgA

Zur qualitativen Bestimmung der Anti-Adenovirus-IgA-Antikörper

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

2. EINLEITUNG

Adenoviren sind unbehüllte, ikosaedrische Partikel mit einem Durchmesser von 60–90 nm. An jeder Ecke befinden sich Fiberproteine, die die Bindung an die Zielzelle erleichtern: Mit ihrer Größe sind sie die größten unbehüllten Viren. Trotz ihrer Größe können sie über Poren in das Innere der Zielzellen gelangen, ohne Hüllen auflösen zu müssen. Bis heute wurden 51 serologisch unterscheidbare Subtypen humaner Adenoviren festgestellt, die in sechs Arten eingeteilt werden. Ihre Wirkung auf die Gesundheit reicht von Erkrankungen der Atemwege hin zu Konjunktivitis und Gastroenteritis. Durch Adenoviren bedingte Infektionen sind verbreitet und häufig und die meisten davon werden im Kindesalter erworben. Sie verlaufen oft latent, weshalb das Virus auch noch nach zwei Jahren in den Tonsillen nachgewiesen werden kann. Das Virus wird mit dem Speichel und dem Stuhl ausgeschieden und es gelangt über den Mund, die Nase und die Bindehaut der Augen in den menschlichen Organismus. Der Großteil der Infektionen verläuft asymptomatisch. Ungefähr 5 % der Erkältungen im Kindesalter werden vom Adenovirus verursacht. Epidemien können zwischen Personen, die sich an überfüllten Orten aufhalten, auftreten. Adenovirale Infektionen können entweder durch direkten Nachweis (Kultur des pathogenen Erregers oder biochemischer Nachweis) oder mit Hilfe serologischer Analysen diagnostiziert werden. Routinemäßig bestehen letztere aus dem Komplementbindungstest (CFT) und aus Enzymimmunoassay-Verfahren (ELISA). Normalerweise werden virale Präparate verwendet, die Träger von hauptsächlich genospezifischen Epitopen sind. Aus klinischer Sicht ist die Prüfung der Präsenz von Subtypen im Fall von Infektionen der Atemwege nicht erforderlich.

Bei der normalen Bevölkerung kann eine hohe Seropositivität aufgrund von bereits in der frühen Kindheit erworbenen Infektionen mit verschiedenen Subtypen festgestellt werden. Im Fall einer akuten adenoviralen Infektion wird bei den herkömmlichen serologischen Verfahren geprüft, ob zwischen zwei Seren, die im Abstand von acht bis zehn Tagen entnommen werden, ein deutlicher Anstieg festzustellen ist. Als Folge der Entwicklung der ELISA-Verfahren kommt der Beurteilung der einzelnen Seren eine verstärkte Bedeutung zu. Obwohl auch der Bestimmung der IgM-Reaktion bei Erstinfektionen durch Influenzavirus eine diagnostische Bedeutung zukommt, ist die IgA-Reaktion in Kombination mit der IgG-Reaktion die hauptsächliche Immunreaktion bei Patienten mit Infektionen durch das Adenovirus.

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Der ELISA-Test nutzt die Reaktion zwischen den in der untersuchten Probe vorhandenen Antikörpern und dem auf Festphasen aus Polystyrol fixierten Antigen.

Durch die Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen.

Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human-IgA-Antikörpern.

Nach dem Entfernen des nicht gebundenen Konjugats durch Waschen wird das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

Die Intensität der blauen Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

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

Das Ergebnis ist in einem Index in Bezug auf einen Cut-off-Wert ausgedrückt.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben und während des Tests Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Die Hände nach Beendigung des Tests sorgfältig waschen.
4. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
 - a) Das Konjugat und die Kontrollen enthalten Phenol
 - b) Das Substrat ist sauer

Wenn ein Reagenz mit der Haut oder mit den Augen in Berührung kommt, diese mit reichlich Wasser spülen.

5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

1. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
5. Kontrollieren, ob der Chorus Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.

8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
12. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
13. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

5.BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF 81198).

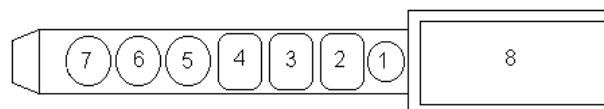
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF 81198/12).

DDTESTMODULE

6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81198).

2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81198/12).

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG,

die mit Antigen von Adenovirus sensibilisiert wurde

Position 5: VERTIEFUNG

nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: 0.26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01% H₂O₂, stabilisiert in Citratpuffer 0.05 mol/l (pH 3.8)

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Proteinlösung mit 0.05 % Phenol, 0.02 % Bronidox und einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst

Position 2: KONJUGAT

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

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen

Verwendung: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen,

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

CALIBRATOR KALIBRATOR **1 x 0.175 ml**
Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter
 Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin. Flüssig,
 gebrauchsfertig

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE **1 x 0.425 ml**
Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter
 Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin. Flüssig,
 gebrauchsfertig

**WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT
 MITGELIEFERTES MATERIAL**

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIE

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

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

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

TESTMODULE	8 Wochen bei 2/8 °C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2/8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2/8 °C

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird. Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20 °C eingefroren. Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden. Nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen. Durch eine mikrobiische Kontamination kann die Qualität der Probe stark beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Stark lipämische, ikterische oder kontaminierte Proben können nicht verwendet werden. Der Test ist nicht bei Plasma anwendbar.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, Punkte 1 und 8, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu untersuchenden, unverdünnten Serums geben; bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

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

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

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus Laboranalysator liefert ein qualitatives Ergebnis als Index im Verhältnis zu einem Cut-off-Wert (chargenabhängig - Verhältnis zwischen dem Wert der OD der Probe und dem des Cut-off), der vom Analysator gespeichert wird.

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: Index >1.1
 NEGATIV: Index <0.9
 GRAUZONE/MEHRDEUTIG: Index zwischen 0.9 und 1.1

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig liegen, die Blutabnahme nach 1-2 Wochen wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Der Test darf nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden. Ein negatives Ergebnis schließt die Eventualität einer Infektion nicht aus.

Seren, die während der akuten Phase der Infektion entnommen wurden, könnten mit dieser Technik ein negatives Ergebnis bringen, weil sich die Serokonversion erst Wochen (3–4) Wochen nach der Infektion zeigen kann. Bei positivem Ergebnis wird empfohlen, eine 8–14 Tage später entnommene zweite Probe zu analysieren, um zu prüfen, ob die IgA-Antikörper angestiegen sind. Das Testergebnis muss in jedem Fall zusammen mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Verfahren beurteilt werden.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 11 Serumproben mit potentiellen Interferenten getestet:

Triglyceride (n=2)

PCR (n=7)

RF (n=2)

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

13. DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Bei einem Versuch wurden 81 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert; die nicht übereinstimmenden Proben wurden unter Verwendung eines Immunfluoreszenztests bestätigt.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsergebnisse aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Insgesamt	16	65	81

Diagnostische Sensitivität: 100.0 % CI_{95%}: 80.6–100.0

Diagnostische Spezifität: 95.4 % CI_{95%}: 87.3–98.4

14. PRÄZISION

PRÄZISION INNERHALB EINES DURCHLAUFS

	Parallelproben	Mittelwert Index	SD	CV %
Charge 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Charge 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Charge 618-S	15	2.7	0.20	7.4

PRÄZISION ZWISCHEN DURCHLÄUFEN

	Probe	Mittelwert Index	SD	CV %
Charge 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Charge 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5

Charge 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A - der Wert CV % kann nicht berechnet werden, weil der Mittelwert 0 beträgt (Division durch 0)

15. LITERATUR

1. Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
2. Meier and Greber (2004). Adenovirus endocytosis. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
3. Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527–531.
4. Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46–53, 1992.
5. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587–601, (1999).
6. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
7. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. SYMBOLERKLÄRUNG

	Herstellungsdatum
	Verwendbar bis
	Nicht wieder verwenden
	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen
	Hersteller
	Inhalt reicht für „n“ Tests
	Temperaturgrenzwerte
	Die Gebrauchsanleitung lesen
	Biologisches Risiko
	Katalognummer
	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum
	Chargennummer



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS ADENOVIRUS IgA

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυματική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgA anti-Adenovirus στον ανθρώπινο ορό με διάταξη μιας χρήσης εφαρμοσμένης στα όργανα Chorus και Chorus TRIO.

CHORUS ADENOVIRUS IgA

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgA anti-Adenovirus**

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι αδενοϊοί είναι εικοσαεδρικά σωματίδια διαμέτρου 60-90 nm δίχως περίβλημα και εφοδιασμένα με μια ινώδη πρωτεΐνη σε κάθε κορυφή, η οποία διευκολύνει την προσβολή πάνω στα κύτταρα-στόχους: σε τέτοιου τύπου διαστάσεις φθάνουν οι μεγαλύτεροι ιοί χωρίς περίβλημα. Οι διαστάσεις τους, ωστόσο, δεν καθιστούν επίσης δυνατή την είσοδο στο εσωτερικό των κυττάρων-στόχων μέσω των πόρων, χωρίς να χρειάζεται προσφυγή στη συγχώνευση των περιβλημάτων. Μέχρι σήμερα, έχουν αναγνωρισθεί πενήντα διαφορετικοί ορότυποι των ανθρώπινων αδενοϊών, οι οποίοι υποδιαιρούνται σε έξι είδη. Οι επιπτώσεις τους στην υγεία κυμαίνονται από αναπνευστικές παθήσεις έως την επιπεφυκίτιδα έως τη γαστροεντερίτιδα. Οι λοιμώξεις από αδενοϊούς είναι συνήθεις και συχνές, και το μεγαλύτερο μέρος από αυτές συναντώνται στην παιδική ηλικία. Αυτές εξελίσσονται κατά λανθάνοντα τρόπο, έτσι ώστε ο ιός να μπορεί ακόμα να βρεθεί στις αμυγδαλές ύστερα από δύο χρόνια λοίμωξης. Ο ιός εξουδετερώνεται εξωτερικά με το σάλιο και τα περιττώματα και εισάγεται στο εσωτερικό του ανθρώπινου σώματος μέσω του στόματος, της μύτης και του επιπεφυκότα του ματιού. Κατά ένα μεγάλο μέρος οι λοιμώξεις είναι ασυμπτωματικές. Το 5% περίπου των κρουσμάτων σε παιδική ηλικία προκαλούνται από αδενοϊούς. Επιδημίες μπορούν να προκύψουν ανάμεσα σε ανθρώπους που συχνάζουν σε μέρη με πολυκοσμία. Οι αδενικές λοιμώξεις μπορούν να διαγνωστούν με άμεση επαλήθευση (καλλιέργεια του παθογόνου παράγοντα ή βιοχημικός προσδιορισμός) ή μέσω ορολογικών εξετάσεων. Σε διαδικασίες ρουτίνας οι τελευταίες αυτές διαδικασίες εκπροσωπούνται από τη σύνδεση του συμπληρώματος (CFT) και από ανοσοενζυμικές δοκιμές (ELISA). Γενικά, χρησιμοποιούνται κυρίως ιογενή παρασκευάσματα που φέρουν κυρίως εκλεκτικά ως προς το γένος επίτοπα. Η

εξακρίβωση της παρουσίας υποτύπων σε περίπτωση αναπνευστικών λοιμώξεων δεν απαιτείται επί του παρόντος από κλινική άποψη.

Στον φυσιολογικό πληθυσμό μπορεί να εξακριβωθεί ένα ανυψωμένο μέτρο οροθετικότητας που προκαλείται από λοιμώξεις με διάφορους υποτύπους που έχουν ήδη λάβει χώρα στη νεότερη παιδική ηλικία. Στην περίπτωση μιας αδενικής οξείας λοιμώξεως επαληθεύονται σε κλασσικές ορολογικές διαδικασίες σημαντικές αυξήσεις του τίτλου σε ζεύγη του ορού που ελήφθησαν μέσα σε διάστημα οκτώ - δέκα ημερών. Μετά από την εξέλιξη των διαδικασιών του τεστ ELISA, η σημασία της αξιολόγησης των μεμονωμένων ορών έχει αυξηθεί.

Παρά το γεγονός ότι ο καθορισμός της απόκρισης IgM έχει διαγνωστική αξία στις πρωτογενείς λοιμώξεις από τον ιό της γρίπης, η απόκριση IgA, σε συνδυασμό με την απόκριση IgG αποτελεί την πρωτογενή ανοσιακή απόκριση σε ασθενείς με λοιμώξεις Αδενοϊού.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ βασίζεται στην μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Το τεστ ELISA χρησιμοποιεί την αντίδραση μεταξύ των αντισωμάτων που υπάρχουν μέσα στο δείγμα που εξετάστηκε και του αντιγόνου που ακινητοποιήθηκε σε στερεές φάσεις πολυστυρενίου.

Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό.

Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από μονοκλωνικά αντισώματα ανθρώπινης αντι-IgA συζευγμένα με υπεροξειδάση χρένου.

Το συζυγές που δεν αντέδρασε απομακρύνεται με την πλύση και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.

Η ένταση του κυανού χρώματος που σχηματίζεται είναι ανάλογη προς την συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων που βρίσκονται στον υπό εξέταση ορό.

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως δείκτης σχετικά με μια τιμή αποκοπής.

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 εγκεκριμένα από την FDA τεστ, τόσο όσον αφορά την ανίχνευση του HbsAg όσο και για τα αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσματικό. Χρησιμοποιείτε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα παίρνοντας όλες τις προφυλάξεις που προβλέπονται από τους κανονισμούς ασφαλείας του εργαστηρίου.

Διάθεση αποβλήτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιούνται πρέπει να επεξεργάζονται ως μολυσματικά απόβλητα και στη συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.
3. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μόλις τελειώσετε το τεστ.
4. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - α) το συζυγές και τα αντιδραστήρια ελέγχου περιέχουν φαινόλη
 - β) Το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
5. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η ζώνη που έχει μολυνθεί θα πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση φέρτε τα σετ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και χρησιμοποιήστε τα μέσα σε 60 λεπτά.

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο του οργάνου..
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).

6. Μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης του γραμμικού κώδικα να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων.
8. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
10. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
12. Εισάγετε τον ορό που θα αναλυθεί (50 ul) στην κυψελίδα 1 του σετ με σιφώνιο (βλ. εικόνα).
13. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81198).

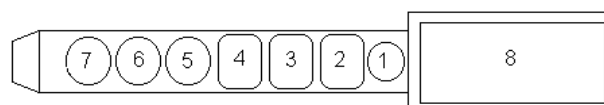
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81198/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81198).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81198/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Ευαισθητοποιημένη με αντιγόνο του Αδενοϊού.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05%, Bronidox 0,02% και έναν δείκτη που ανιχνεύει την παρουσία ορού.

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: μονοκλωνικά αντισώματα σεσημασμένα με ανθρώπινη anti IgA με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

Χρήση: Αφήστε να ισορροπήσει μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα, βγάλτε όσα σερβιέζετε και βάλτε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, που περιέχει γέλη πυριτίου, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε την** πιέζοντας το ειδικό σύστημα κλεισίματος. Αποθηκεύστε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με Proclin και Gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση. Υγρός, έτοιμος για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με Proclin και Gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση. Υγρός, έτοιμος για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Στάνταρντ υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λ.π.
- Μικροπιπέτες που αναρροφούν με ακρίβεια όγκους 50-200 µL
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την απόρριψη των δυνητικά μολυσματικών υλικών.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό ελέγχου (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

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

Τα Αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία

ΣΕΤ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα είναι ένας ορός που προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους κανονισμούς των εργαστηρίων. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C, ενώ για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους καταψύξτε στους -20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Μετά από την απόψυξη και πριν να το ρίξετε στην κυψελίδα, ανακινήστε το καλά. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Δείγματα με ισχυρή λιπιδαιμία, με ίκτερο, ή μολυσμένα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Το τεστ δεν μπορεί να γίνει πάνω σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σερβιέζετε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες, σημεία 1 και 8.
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός σετ, 50 µL μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημαίνει ό,τι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

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

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η συσκευή Chorus παρέχει ένα ποσοτικό αποτέλεσμα σε δείκτη ως προς μια τιμή αποκοπής (εξαρτώμενη από την παρτίδα - αναλογία ανάμεσα στην τιμή οπτικής πυκνότητας (OD) του δείγματος και εκείνης της αποκοπής) που βρίσκεται περασμένη στην μνήμη της συσκευής.

Το τεστ πάνω στον ορό μπορεί να ερμηνευτεί ως κατωτέρω:

ΘΕΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι > 1.1
ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι < 0.9

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ Δείκτης βρίσκεται ανάμεσα στα 0.9 και 1.1

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές, επαναλάβετε την αιμοληψία μετά από 1-2 εβδομάδες.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Το τεστ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από μόνο του για μια κλινική διάγνωση. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει το ενδεχόμενο μόλυνσης.

Οροί που έχουν συλλεχθεί κατά το πρώιμο οξύ στάδιο της λοίμωξης υπάρχει πιθανότητα να δώσουν αρνητικά αποτελέσματα με αυτή την τεχνική επειδή η ορομετατροπή μπορεί να απαιτήσει εβδομάδες (3-4) από τη μόλυνση για να εκδηλωθεί. Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, συνιστάται η ανάλυση ενός δευτέρου δείγματος που ελήφθη 8-14 ημέρες αργότερα, για να εξακριβωθεί μια ενδεχόμενη αύξηση των IgG. Το αποτέλεσμα του τεστ πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί μαζί με κλινικά δεδομένα και από άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Ελέγχθηκαν 11 δείγματα ορού που περιέχουν πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες:

Τριγλυκερίδια (n=2)

PCR (n=7)

RF (n=2)

Η παρουσία στον ορό στην εξέταση των παρεμβαλλόμενων ουσιών που αναφέρονται ανωτέρω δεν τροποποιεί το αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Σε μια εκτέλεση πειραμάτων, αναλύθηκαν 81 δείγματα με kit DIESSE και με ένα άλλο kit του εμπορίου; τα μη συμφωνούντα δείγματα επιβεβαιώνονται χρησιμοποιώντας ένα τεστ ανοσοφθορισμού.

Τα δεδομένα του πειράματος συνοψίζονται κατωτέρω:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
DIESSE	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Σύνολο	16	65	81

Διαγνωστική Ευαισθησία: 100.0 % CI_{95%}: 80.6 –100.0

Διαγνωστική Εκλεκτικότητα: 95.4 % CI_{95%}: 87.3 - 98.4

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ

	Επαναλήψεις	Μέσος Δείκτης	D.S.	CV%
Παρτίδα 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Παρτίδα 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Παρτίδα 618-S	15	2.7	0.20	7.4

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΘΕΣΕΙΣ

	Δείγμα	Μέσος Δείκτης	D.S.	CV%
Παρτίδα 616-S	Πρότυπο 1	0.3	0.00	N/A
	Πρότυπο 2	0.9	0.10	11.1
	Πρότυπο 3	3.1	0.17	5.5
Παρτίδα 617-S	Πρότυπο 1	0.3	0.00	N/A
	Πρότυπο 2	1.0	0.15	15.0
	Πρότυπο 3	3.4	0.12	3.5
Παρτίδα 618-S	Πρότυπο 1	0.3	0.00	N/A
	Πρότυπο 2	1.0	0.17	17.0
	Πρότυπο 3	3.3	0.50	15.2

N/A - είναι αδύνατος ο υπολογισμός της τιμής CV% γιατί η μέση τιμή είναι 0 (διαίρεση με το 0)

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
- Meier and Greber (2004). Adenovirus endocytosis. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
- Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
- Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
- Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601 , (1999).
- G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

	Ημερομηνία Παραγωγής
	Ημερομηνία λήξης
	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση
	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα
	Κατασκευαστής
	Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις
	Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Αριθμός καταλόγου
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός παρτίδας



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Adenovirus IgA

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgA anti *Adenovirus* en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

CHORUS

Adenovirus IgA

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgA anti-Adenovirus

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

2. INTRODUCCIÓN

Los adenovirus son partículas icosaédricas sin envoltura de 60-90 nm de diámetro y provistas de proteínas fibrosas en correspondencia de cada vértice, que facilitan su ataque a las células diana: estas dimensiones los convierten en los más grandes de los virus sin envoltura. Su tamaño, sin embargo, hace posible la entrada en las células diana a través de los poros, sin recurrir a la fusión de las envolturas. Hasta la fecha, se reconocen cincuenta y uno diferentes serotipos de adenovirus humanos, divididos en seis especies. Sus efectos sobre la salud van desde las enfermedades respiratorias a la conjuntivitis a la gastroenteritis. Las infecciones por Adenovirus son comunes y frecuentes, y la mayoría de ellas se contrae en la infancia. El curso de estas enfermedades es a menudo latente, por lo que el virus aún se pueden encontrar en las amígdalas después de dos años de la infección. El virus se elimina con la saliva y las heces y se introduce en el cuerpo humano a través de la boca, la nariz y la conjuntiva del ojo. La mayoría de las infecciones es asintomática. Aproximadamente el 5% de los resfriados en los niños es causado por adenovirus. Las epidemias pueden ocurrir en lugares llenos de gente. Las infecciones adenovirales pueden ser diagnosticadas mediante verificación directa (cultivo del agente patógeno o identificación bioquímica) o mediante pruebas serológicas.

En la rutina, estas están representadas por la prueba de fijación del complemento (CFT) y por las pruebas inmunoenzimáticas (ELISA). Generalmente se utilizan preparaciones virales que contienen epítomos genotípicos y específicos. La detección de la presencia de subtipos en el caso de infecciones respiratorias no es necesaria actualmente desde el punto de vista clínico. En la población normal puede comprobarse una alta seropositividad causada por infecciones con subtipos

diferentes que tuvieron lugar ya en la más joven edad infantil. En el caso de una infección viral aguda se comprueban en los procedimientos serológicos clásicos aumentos significativos del título en parejas de suero recogidas ocho - diez días una después de la otra. Tras el desarrollo de los procedimientos de pruebas ELISA se ha incrementado la importancia de evaluar los sueros individuales. Aunque la determinación de la respuesta IgM tenga valor diagnóstico en las infecciones primarias del virus de la gripe, la respuesta IgA, en combinación con la respuesta IgG, es la principal respuesta inmune en pacientes con infección por adenovirus.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay)

La prueba ELISA utiliza la reacción entre los anticuerpos presentes en la muestra analizada y el antígeno inmovilizado en fases sólidas de poliestireno.

Después de la incubación con suero humano diluido, las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado compuesto de anticuerpos monoclonales anti IgA humanas conjugados con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido es eliminado y se añade el sustrato peroxidasa.

El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus. El resultado se expresa en index en relación a un valor de Cut-Off.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y dieron 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 completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral.

2. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavar las manos a fondo después de terminar la prueba.
4. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado y los controles contienen fenol
 - b) El sustrato es ácido
 Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante
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 vertido 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 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. 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 en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras colocado en la 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.
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, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga partículas extrañas.
12. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).

13. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81198).

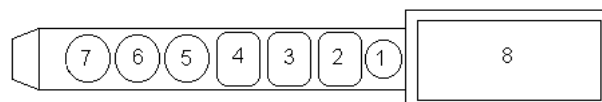
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81198/12).

DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81198).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81198/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con antígeno de Adenovirus

Posición 5: POCILLO

No sensibilizado

Posición 4: SUBSTRATO 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, que contiene fenol al 0.05%, Bronidox al 0.02% y un marcador para indicar la presencia de suero

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti IgA humanas marcados con peroxidasa, en una solución fosfato tamponada que contiene fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos con Proclin y Gentamicin. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos con Proclin y Gentamicin. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS.

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio. El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces. No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas. Este Test no puede realizarse con muestra de plasma.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros 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 Analíticas puntos 1 y 8.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo, por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.

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

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus proporciona un resultado cualitativo en Index en relación a un valor Cut-Off (lote dependiente- relación entre el valor en D.O. de la muestra y lo del Cut-Off) almacenado en el instrumento.

La prueba puede ser interpretada como sigue:

- Positivo: cuando el Index es >1.1
- Negativo: cuando el Index es < 0.9
- Dudoso/Equívoco: Index entre 0.9 y 1.1

En caso de resultado dudoso/equívoco, se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra de sangre después de 1-2 semanas.

11. LIMITACIONES

Este Test no debe ser la única prueba utilizada por el diagnóstico clínico. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.

Sueros recogidos durante la fase aguda de la infección podrían ser negativos con esta técnica ya que la seroconversión puede tardar semanas (3-4) después de la infección. En caso de positividad, se aconseja el análisis de una nueva muestra recogida 8/12 días después, para comprobar un eventual aumento de las IgA. El resultado de la prueba debe ser evaluado junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 11 muestras de suero conteniendo potenciales interferentes:

Triglicéridos (n=2)
PCR (n=7)
RF (n=2)

La presencia en el suero de las sustancias interferentes arriba indicadas no afecta el resultado del test.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba clínica se analizaron 81 muestras con el kit Diesse y con otro método comercial; las muestras discordantes fueron confirmadas mediante una prueba de inmunofluorescencia.

Abajo están indicados los resultados de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Total	16	65	81

Sensibilidad de Diagnóstico: 100.0% $CI_{95\%}$: 80.6 – 100.0

Especificidad de Diagnóstico: 95.4% $CI_{95\%}$: 87.3 – 98.4

14. REPRODUCIBILIDAD

REPRODUCIBILIDAD INTRA-ENSAYO

	Replicados	Media Index	D.S.	CV%
Lote 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Lote 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Lote 618-S	15	2.7	0.20	7.4

REPRODUCIBILIDAD ENTRE ENSAYOS

	Muestra	Media Index	D.S.	CV%
Lot 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Lot 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Lot 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A - es imposible calcular el valor de CV% porque el promedio es 0 (división por 0)

15. BIBLIOGRAFÍA

- Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
- Meier and Greber (2004). Adenovirus endocytosis. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
- Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
- Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.

- Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601 , (1999).
- G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Fecha de Fabricación
	Fecha de caducidad
	No reutilizar
	Atención ver instrucciones de uso
	Fabricante
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso
	Riesgo biológico
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Código de lote



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS ADENOVIRUS IgA

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps IgA anti-Adénovirus dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux instruments Chorus et Chorus TRIO.

CHORUS ADENOVIRUS IgA

**Pour la détermination qualitative des anticorps
IgA anti-Adénovirus**

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

2. INTRODUCTION

Les Adénovirus sont des particules icosaédriques de 60-90 nm de diamètre sans enveloppe et pourvus de protéines fibreuses au niveau de chaque sommet qui en facilite l'accrochage sur les cellules cibles : ces dimensions font que ce sont de grands virus privés d'enveloppe. Leurs dimensions, ce pendant, leur permettent également d'entrée à l'intérieur des cellules-cibles à travers les pores sans devoir recourir à la fusion des enveloppes. Jusqu'à maintenant, cinquante-et-un sérotypes différents d'adénovirus humains ont été reconnus et sont divisés en six espèces. Leurs effets sur la santé vont des maladies respiratoires à la conjonctivite en passant par la gastroentérite. Les infections provoquées par des Adénovirus sont communes et fréquentes et la plupart de celles-ci se concentrent durant la période infantile. Celles-ci prennent effet souvent de façon latente; ainsi le virus peut encore être détecté dans les amygdales deux ans après l'infection. Le virus est éliminé à l'extérieur avec la salive et les selles et s'introduit à l'intérieur de l'organisme humain en passant par la bouche, le nez et la conjonctivite à l'oeil. La plupart des infections sont asymptomatiques. Environ 5% des rhumes durant l'enfance sont provoqués par des Adénovirus. Des épidémies peuvent se vérifier chez les personnes qui fréquentent des lieux pleins de monde. Les infections à adénovirus peuvent être diagnostiquées par un contrôle direct culture de l'agent pathogène ou identification biochimique) ou avec des analyses sérologiques. En général, ces dernières sont représentées par la fixation du complément (CFT) et par des tests immunoenzymatiques (ELISA). En général, des préparations de virus comportant des épitopes spécifiques du gène sont utilisées. Actuellement, la vérification de la présence de sous-types en cas d'infections respiratoires ne résulte pas nécessaire au point de vue clinique.

Chez la population normale, on peut vérifier une quantité élevée de séropositivité provoquée par des infections avec différents sous-types qui ont eu lieu déjà très tôt dans l'enfance. Dans le cas d'une infection à adénovirus aiguë, il est possible d'observer dans les procédés sérologiques des augmentations importantes du titre sur des paires de sérum prélevées à huit-dix jours d'intervalle. Par le développement de procédés de test ELISA, l'évaluation de sérums isolés prend de plus en plus d'importance.

Même si la détermination de la réponse IgM a une valeur de diagnostic dans les infections primaires provoquées par des virus de la grippe, la réponse des IgA, associée à la réponse des IgG, est la principale réponse immunitaire chez des patients atteints d'infections à Adénovirus.

3. PRINCIPE DE LA METHODE

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Le test ELISA utilise la réaction des anticorps présents dans l'échantillon testé et l'antigène immobilisé sur des phases solides de polystyrène.

A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène.

Après les lavages permettant d'éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgA humaines conjuguées à la peroxydase de raifort.

Avec le lavage, on élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat pour la peroxydase.

La couleur bleue qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques dans le sérum examiné.

Les dispositifs à jeter contiennent tous les réactifs pour effectuer le test quand ils sont appliqués à l'instrument Chorus.

Le résultat est exprimé en Indice par rapport à une valeur de cut-off.

4. PRECAUTIONS

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 le recherche de HbsAg que pour celles des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Etant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

7. Ne pas pipeter avec la bouche.
8. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et durant l'essai.
9. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
10. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes:
 - c) Le conjugué et les contrôles contiennent du phénol
 - d) Le substrat est acide.
 Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, les laver à grande eau.
11. 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. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
12. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant; la zone contaminée devra être décontaminée 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.

14. **ÉLIMINER LES DISPOSITIFS AVEC LE SUBSTRAT (PUITS 4) COLORÉ DE BLEU.**
15. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
16. 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.
17. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
18. S'assurer que l'instrument Chorus est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
19. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif à fin que l'instrument puisse le lire correctement.
20. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
21. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
22. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.

23. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
24. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
25. Pipeter le sérum examiné (50 µl) dans le puits 1 du dispositif (voir la figure).
26. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

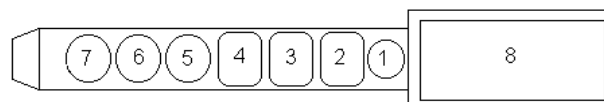
Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 81198).

Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81198/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81198).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81198/12).

Description:

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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec antigène d'Adénovirus

Position 5 : PUIITS

Non sensibilisé

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ECHANTILLONS

Contenu : Solution protéique contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox et un indicateur pour révéler la présence de sérum

Position 2 : CONJUGUE

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgA humaines marqués à la peroxydase, dans un tampon phosphate contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante,

découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisées dans le sachet en plastique avec le 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, à une concentration connue d'anticorps, contenant du Proclin et de la Gentamycine. Liquide, prêt à l'usage.

CONTROL + CONTROLE POSITIF 1 x 0.425 ml
Contenu : Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant du Proclin et de la Gentamycine. Liquide, prêt à l'usage.

AUTRE MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- 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 à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITES DE CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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

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

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
CONTROLE POSITIF	8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ECHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est constitué par sérum obtenu du sang prélevé normalement et manipulé selon les procédés standard de laboratoire. Le sérum frais peut être stocké à +2...+8°C pendant 4 jours; pour un stockage plus long, congeler les sérums à -20°C. Il ne faut pas les décongeler et recongeler plus de 3 fois. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant le dosage. La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut fausser les résultats.

Il ne faut jamais utiliser d'échantillons fortement lipémiques, ictériques, hémolysés ou pollués. Le test ne peut pas être appliqué au plasma.

8. PROCEDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.

2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 : « Précautions analytiques » points 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu (on l'utilise comme décrit dans le Manuel d'utilisation du CHORUS). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors de la fourchette d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents viennent corrigés automatiquement.

SI LE RÉSULTAT DU SÉRUM DE CONTRÔLE N'EST TOUJOURS PAS COMPRIS DANS LA PLAGE D'ACCEPTABILITÉ, CONTACTER LE SCIENTIFIC SUPPORT.

Tél. : 0039 0577 319554
 Fax : 0039 0577 366605
 e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DU TEST

L'instrument Chorus fournit un résultat qualitatif exprimé en Indice par rapport à une valeur cut-off (lot dépendant -rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du cut-off) mémorisé par l'instrument.

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

Positif: quand l'Indice est > 1.1
 Négatif: quand l'Indice est < 0.9
 Douteux/Equivoque : Indice compris entre 0.9 et 1.1

En cas de résultat douteux/equivoque, refaire le test. Si le résultat reste douteux/equivoque, répéter l'échantillon après 1-2 semaines.

11. LIMITES DU TEST

Le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique. Un résultat négatif n'exclut pas l'éventualité d'une infection. Avec cette technique, des sérums prélevés durant la phase aiguë de l'infection pourraient résulter négatifs parce que la séroconversion peut exiger des semaines (3-4) à partir du moment l'infection avant de se manifester. En cas de positivité, il est conseillé d'analyser un deuxième échantillon prélevé 8-14 jours plus tard, pour vérifier s'il y a eu une augmentation des IgA. Le résultat du test doit toujours être évalué en tenant compte des données cliniques et provenant d'autres procédures diagnostiques.

12. SPECIFICITE ANALYTIQUE

11 échantillons de sérum ont été testés contenant d'éventuels interférents:

Triglycérides (n=2)
PCR (n=7)
RF (n=2)

La présence dans le sérum de substances interférentes susmentionnées n'influence pas le résultat.

13. SENSIBILITÉ ET SPECIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

Au cours d'une expérience, 81 échantillons ont été analysés, avec le kit Diesse et avec un autre kit disponible dans le commerce ; les échantillons discordants ont été confirmés en utilisant un test d'immunofluorescence.

Les résultats de l'expérience obtenus sont schématisés ci-après :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Total	16	65	81

Sensibilité Diagnostique : 100.0 % Cl₉₅ % : 80.6 – 100.0
Spécificité Diagnostique : 95.4 % Cl₉₅ % : 87.3 – 98.4

14. PRECISION

PRECISION DANS LE CADRE DE LA SEANCE

	Réplicats	Moyenne Indice	D.S.	CV%
Lot 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Lot 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Lot 618-S	15	2.7	0.20	7.4

PRECISION ENTRE LES SEANCES

	Echantillon	Moyenne Indice	D.S.	CV%
Lot 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Lot 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Lot 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A – la valeur CV% est impossible à calculer parce que la moyenne est 0 (division par 0)

15. BIBLIOGRAPHIE

- Wu and Nemerow (2004). *Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition*. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
- Meier and Greber (2004). *Adenovirus endocytosis*. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.

- Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
- Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
- Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601, (1999).
- G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. EXPLICATION DES SYMBOLES

	Date de fabrication
	Utiliser jusque
	Ne pas réutiliser
	Attention voir notice d'instructions
	Fabricant
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Limites de température
	Consulter les instructions d'utilisation
	Risques biologiques
	Référence du catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Code du lot



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS Adenovirus IgA

1. UTILIZAÇÃO

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

CHORUS Adenovirus IgA

**Para a determinação qualitativa dos anticorpos
IgA anti-Adenovirus**

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

2. INTRODUÇÃO

Os adenovirus são partículas icosaédricas com 60 a 90 nm de diâmetro, sem envólucro e com proteínas fibrosas em correspondência com cada vértice, que facilitam o ataque às células alvo: essas dimensões fazem com que sejam os maiores vírus sem envólucro. Todavia, as suas dimensões tornam também possível a entrada no interior das células alvo através dos poros, sem ter que recorrer à fusão dos envólucros. Até hoje, foram reconhecidos cinquenta e um serótipos diferentes de adenovirus humanos, subdivididos em seis espécies. Os seus efeitos na saúde vão desde as doenças respiratórias à conjuntivite e à gastroenterite. As infecções por Adenovirus são comuns e frequentes, e a maior parte dessas são contraídas no período da infância. Essas decorrem frequentemente de modo latente, de modo que o vírus ainda poderá ser detectado nas amígdalas dois anos após a infecção. O vírus é eliminado para o exterior através da saliva e das fezes, e introduz-se no interior do organismo humano através da boca, do nariz e da membrana conjuntiva do olho. Grande parte das infecções são assintomáticas. Cerca de 5% das constipações na idade infantil são causadas pelos Adenovirus. Podem verificar-se epidemias entre pessoas que frequentam locais com muita gente. As infecções adenovirais podem ser diagnosticadas através da verificação directa (cultivação do agente patogénico ou identificação bioquímica) ou ainda através de análises serológicas. Na rotina, destas últimas são representadas pela fixação do complemento (CFT) e pelos testes imunoenzimáticos (ELISA). Geralmente são utilizados preparados virais portadores prevalentemente de epítopes genospecíficos. A verificação da presença de subtipos em caso de infecções respiratórias, não resulta actualmente necessária do ponto de vista clínico.

Na população normal pode verificar-se uma medição elevada de seropositividade provocada por infecções com diferentes subtipos que se tenham verificado na idade infantil mais jovem. No caso de uma infecção adenoviral aguda, são verificados, nos procedimentos serológicos clássicos, aumentos significativos do título em pares de soros colhidos com intervalos de oito a dez dias. Após o desenvolvimento de procedimentos de teste ELISA, aumentou a importância da avaliação dos soros individuais.

Apesar de, a determinação da resposta IgM tenha um valor diagnóstico nas infecções primárias por vírus gripal, a resposta IgA, em combinação com a resposta IgG, é a resposta imunitária principal em doentes com infecções por Adenovirus.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay).

O teste ELISA desfruta a reacção entre os anticorpos presentes na amostra testada e o antígeno imobilizado em fases sólidas de polistireno.

As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno por meio de uma incubação com soro humano diluído.

Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com o conjugado, formado por anticorpos monoclonais anti-IgA humanas, conjugados com peroxidase de rábano.

Depois de eliminado, através da lavagem, o conjugado que não se ligou, adiciona-se o substrato para a peroxidase.

A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro em exame.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para a realização do teste quando aplicados no instrumento Chorus.

O resultado é expresso em índice relativamente a um valor de cut off.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para A presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo, nenhum teste diagnóstico garante a ausência dos agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana precisam ser considerados potencialmente infecciosos. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

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

Precauções para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.

2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar muito bem as mãos no final do teste.
4. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado e os controlos contêm fenol
 - b) O substrato é ácido

Em caso de contacto desses reagentes com os olhos e a pele, lavar abundantemente com água.

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 desinfectação 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 infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem à temperatura ambiente (18 a 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 verifique se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Controlar a presença efectiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo; não usar dispositivos que, visualmente, apresentem a falta de qualquer reagente.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
5. Controlar que o instrumento Chorus esteja programado correctamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, permitindo uma correcta leitura pelo equipamento.
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.

9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus, verificar que o poço de reacção não contenha corpos estranhos.
12. Pipetar o soro em teste (50 µL) no poço 1 do dispositivo (ver a figura).
13. Não usar o dispositivo depois da data de validade.

5. COMPOSIÇÃO DO KIT PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81198).

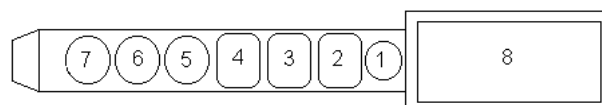
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81198/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81198).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81198/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para o rótulo com o código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com antígeno de Adenovirus

Posição 5: POÇO

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 AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para revelar a presença de soro

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído

Uso: estabilizar um pacote à 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, com concentração conhecida de anticorpos, com Proclin e Gentamicina. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, com concentração conhecida de anticorpos, com Proclin e Gentamicina. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Água destilada ou desionizada
- 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 a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infecciosos

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 exactidão do resultado por meio do soro de controlo (consultar o capítulo 9: Validação do teste).

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

A amostra é um soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório. O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes do teste. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados. Não devem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictericas ou contaminadas. O teste não pode ser aplicado ao plasma.

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. Controlar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas" pontos 1 e 8.
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 50 µL de soro não diluído a analisar; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exactidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Instruções do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efectuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus fornece um resultado qualitativo em Índice em relação a um valor de cut-off (lote dependente – razão entre o valor em OD da amostra e o de cut-off) memorizado pelo instrumento.

O teste no soro em exame pode ser assim interpretado:

Positivo: quando o Índice for > 1.1
Negativo: quando o Índice for < 0.9
Incerto/Equivocado: Índice compreendido entre 0.9 e 1.1

Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado. Se o resultado continua incerto/equivocado, repetir a colheita após 1 a 2 semanas.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

O teste por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. Um resultado negativo não significa que não possa existir uma infecção.

Os soros recolhidos durante a fase aguda da infecção poderão dar resultados negativos com esta técnica porque a seroconversão pode requerer semanas (3 a 4) desde a infecção para se manifestarem. Em caso de resultado positivo, aconselha-se a análise de uma segunda amostra colhida 8 a 14 dias mais tarde, para verificar o eventual aumento das IgA. O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados clínicos e com outros procedimentos diagnósticos.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 11 amostras de soros contendo potenciais interferentes:

Triglicéridos (n=2)

PCR (n=7)

RF (n=2)

A presença no soro em exame de substâncias interferentes acima indicadas não altera o resultado do teste.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO DIAGNÓSTICO

Numa experimentação foram testadas 81 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado; as amostras com resultados diferentes foram confirmadas usando um teste de imunofluorescência.

A seguir estão descritos os resultados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Total	16	65	81

Sensibilidade do Diagnóstico: 100.0% CI_{95%}: 80.6 – 100.0

Especificidade do Diagnóstico: 95.4% CI_{95%}: 87.3 – 98.4

14. PRECISÃO

PRECISÃO DURANTE A SESSÃO

	Duplicados	Média Índice	D.S.	CV%
Lot 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Lot 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Lot 618-S	15	2.7	0.20	7.4

PRECISÃO ENTRE SESSÕES

	Amostra	Média Índice	D.S.	CV%
Lot 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Lot 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Lot 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A - o valor CV% é impossível de calcular porque a média é 0 (divisão por 0)

15. BIBLIOGRAFIA

1. Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends

Microbiol 12: 162–168.

DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.

2. Meier and Greber (2004). *Adenovirus endocytosis*. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
3. Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
4. Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
5. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601, (1999).
6. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
7. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS

	Data de fabrico
	Prazo de validade
	Não reutilizar
	Atenção, consulte a documentação incluída
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	Limites de temperatura
	Consulte as instruções de utilização
	Risco biológico
	Referência de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Código do lote



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Adenovirus IgA

1. DESTINATIA UTILIZARII

Metoda imuno-enzimatica pentru determinarea calitativa a anticorpilor de clasa IgA pentru *Adenovirus* in ser uman, utilizand un dispozitiv de unica folosinta utilizat pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

CHORUS Adenovirus IgA

Pentru Determinarea Calitativa a Anticorpilor IgA pentru Adenovirus

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

2. INTRODUCERE

Adenovirusurile sunt particule fara invelis, icosaedrice, cu dimensiuni de 60-90 nm in diametru, cu proteine fibrilare pe fiecare varf, fapt ce faciliteaza atacul impotriva celulelor tinta: acestea reprezinta cele mai mari virusuri fara invelis. Datorita dimensiunilor mari, aceste virusuri pot fi transportate catre interiorul celulelor tinta prin pori (contopirea invelisului nu este necesara). Pana in prezent, au fost identificate 51 de serotipuri la om, impartite in 6 specii. Cele mai multe infectii cu adenovirus genereaza infectii ale tractului respirator ce variaza de la conjunctivite pana la gastroenterite. Infectiile cu adenovirus sunt obisnuite si frecvente si sunt in principal contractate in timpul copilariei. Cursul acestor boli este adesea latent, si, din acest motiv, virusul poate fi detectat in amigdale chiar si la doi ani dupa contractarea infectiei. Virusul se transmite prin saliva si scaun si este transmis de la o persoana la alta pe cale orala, nazala sau oculara.

Majoritatea infectiilor sunt asimptomatice. Aproximativ 5% dintre racelile contractate de catre copii sunt cauzate de Adenovirus. Virusul se poate raspandi in medii ambientale aglomerate provocand epidemii. Infectiile cu Adenovirus pot fi detectate prin verificarea directa (cresterea antigenului patogen sau identificarea biochimica) sau prin analiza serologica, care sunt reprezentate prin testele de fixare a complementului (CFT - *complement fixation test*) si teste imunologice (ELISA). Sunt in general utilizate preparatele virale ce contin in mod principal epitopi genospecfici. In prezent, verificarea prezentei subtipurilor in cazul infectiilor respiratorii, nu mai sunt considerate ca fiind neceare din punct de vedere clinic.

In ranul populatiei normale, se observa o seropozitivitate crescuta si este cauzata de infectii cu diferite subtipuri contractate in timpul copilariei. In cazul unei infectii adenovirale acute, procedurile serologice normale inregistreza cresteri

semnificative ale titrului in cazul a doua seruri recoltate la un interval 8-10 zile unul fata de celalalt. Odata cu dezvoltarea procedurilor de testare ELISA, evaluarea unui singur ser capata importanta.

Cu toate ca determinarea IgM are valoare de diagnosticare in cazul infectiilor primare, determinarea IgA, impreuna cu determinarea IgG, reprezinta raspunsul imunitar principal in cazul pacientilor cu infectii cu Adenovirus.

3. PRINCIPIUL ANALIZEI

Testul se bazeaza pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), care utilizeaza reactia dintre anticorpii prezenti in proba testata si antigenul imobilizat cuplat cu fazele solide.

Imunoglobulinele se cupleaza cu antigenul prin incubare cu serul uman diluat. Dupa etapele de spalare desfasurate pentru a elimina proteinele care nu au reactionat, se efectueaza incubarea cu conjugatul (anticorpi monoclonali IgA anti-umani conjugati cu peroxidaza de hrean). Conjugatul care nu s-a cuplat este eliminat, si se adauga substratul de peroxidaza.

Culoarea albastra care se dezvolta este proportionala cu concentratia anticorpilor specifici prezenti in serul de testare.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii necesari pentru efectuarea testului atunci cand acestea sunt utilizate pe instrumentele Chorus. Rezultatul este exprimat drept INDICE (raportul dintre valoarea OD a probei si cea a Cut-Off).

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul CHORUS.
4. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante daunatoare sau iritante:
 - a) Conjugatul si controalele contin fenol
 - b) Substratul este acid

În cazul în care vreunul dintre reactivi intra în contact cu pielea sau cu ochii, spălați zona temeinic cu apă.

5. Acizii neutralizați și alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adăugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1,0%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu în concentrație de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficientă.
6. Picăturile de substanțe potențial infectioase trebuie îndepărtate imediat cu prosop de hartie absorbantă, și, înainte de a continua lucrul, zona contaminată trebuie tamponată, de exemplu, cu 1,0% soluție de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone în care s-au varsat substanțe continând acid, cu excepția cazului în care acea zonă a fost mai întâi stearsă și uscată. Materialele utilizate pentru curățarea picăturilor, inclusiv manusile, trebuie îndepărtate ca fiind deseuri potențial bio-periculoase. Nu autoclavați materialele ce conțin hipoclorit de sodiu.

Măsuri de Precauție Analitice

Înainte de utilizare, lăsați dispozitivele să ajungă la temperatura camerei (18-30°C); utilizați-le în decurs de 60 de minute.

1. **Îndepărtați dispozitivele al căror substrat (godeul 4) este de colorație albastră.**
2. La adăugarea probei în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fundul godeului.
3. Verificați ca reactivii să existe în dispozitiv, și ca dispozitivul să nu fie deteriorat; nu utilizați dispozitive cărora le lipsește vreun reactiv.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii împreună cu instrumentul Chorus; instrucțiunile de utilizare trebuie urmate cu atenție și trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificați ca instrumentul Chorus să fie setat în mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
6. Nu deteriorați codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului să îl citească în mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitați utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual în instrument.
9. În timpul depozitării și utilizării, nu expuneți dispozitivele la lumina puternică sau la vapori de hipoclorit.
10. Utilizarea probelor puternic hemolizate sau a probelor prezentând contaminare microbiană, pot constitui surse de indicare a unei erori.
11. Înainte de a introduce dispozitivele în instrument, verificați ca godeul de reacție să nu conțină corpuri străine.
12. Pipetați serul de testare (50 µl) în godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
13. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.

5. COMPONENTA KITULUI ȘI PREGĂTIREA REACTIVILOR

Kitul conține suficiente dispozitive și substanțe pentru efectuarea a 36 de determinări (REF 81198).

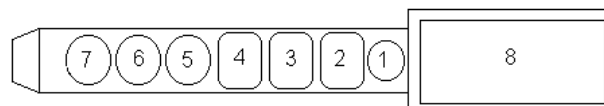
Kitul conține suficiente dispozitive și substanțe pentru efectuarea a 12 de determinări (REF 81198/12).

[DD] DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare conținând 6 dispozitive (REF 81198).

2 pachete, fiecare conținând 6 dispozitive (REF 81198/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spațiu pentru aplicarea etichetei cu cod de bare

Pozitia 7: Goala

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu antigen Adenovirus

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII

Necaptusit

Pozitia 4: SUBSTRAT TMB

Continut: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/ml și H₂O₂ 0.01% stabilizate în 0,05 mol/l tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: DILUANTUL PROBEI

Continut: Soluție proteică conținând fenol 0.05%, Bronidox 0.02% și un indicator pentru evidențierea prezentei serului

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi monoclonali IgA anti-umani IgA marcați cu peroxidază în tampon fosfat conținând fenol 0.05% și Bronidox 0.02%

Pozitia 1: GODEU GOL

În care operatorul trebuie să distribuie serul nediluat

Utilizare: lăsați un pachet să ajungă la temperatura camerei, deschideți pachetul și scoateți dispozitivele necesare; repuneți-le pe celelalte în pungă împreună cu pliculețul cu silica gel, scoateți aerul din pungă și **sigilați** prin presarea sistemului de închidere. Pastrati la 2-8°C.

[CALIBRATOR] CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Continut: Ser uman diluat, cu o concentrație cunoscută de anticorpi, conținând Proclin și Gentamicina. În formă lichidă, gata de utilizare.

[CONTROL +] CONTROL POZITIV

1 x 0.425 ml

Continut: Ser uman diluat, cu o concentrație cunoscută de anticorpi, conținând Proclin și Gentamicina. În formă lichidă, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Apa distilată sau deionizată

- Sticlărie obisnuită de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exactă a 50-200 µl de soluție
- Manusi de unică folosință
- Soluție de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrării la o temperatură necorespunzătoare, calibrarea trebuie repetată, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizând serul de control (a se vedea secțiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimată pe fiecare componentă și pe eticheta kitului.

După deschidere, stabilitatea reactivilor este limitată:

DISPOZITIVELE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBRATORUL	8 săptămâni la 2/8°C
CONTROLUL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C

7. RECOLTAREA SI PASTRAREA SPECIMENELOR

Proba este compusă din serul recoltat prin metoda obișnuită, din venă, și manevrată respectând toate măsurile de precauție dictate de bunele practici de laborator. Serul proaspăt poate fi păstrat timp de 4 zile la 2/8°C, sau congelat în vederea păstrării pentru perioade mai îndelungate la -20°C, și poate fi dezghețat de maxim 3 ori. Probele dezghețate trebuie agitate cu atenție înainte de utilizare. Calitatea probei poate fi grav afectată în cazul contaminării microbiene, care duce la rezultate eronate. Probele conținând o cantitate mare de lipide, puternic icterice, hemolizate sau contaminate nu pot fi utilizate. Testul nu poate fi efectuat în cazul plasmei.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideți pachetul (pe latura care conține dispozitivul de închidere prin presare), extrageți numărul necesar de dispozitive și, după ce ați eliminat aerul din interiorul pungii conținând restul dispozitivelor, sigilați-o.
2. Verificați starea dispozitivului în conformitate cu indicațiile menționate în capitolul 4, Măsurile de Precauție Analitice, punctele 1 și 8.
3. Distribuți 50 µl din serul de testare nediluat în godeul numărul 1 al fiecărui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionați dispozitivele în instrument. Efectuați calibrarea (în cazul în care este necesar) și testul conform specificațiilor din Manualul de Operare al instrumentului Chorus.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obținute. Acesta trebuie folosit conform indicațiilor din manualul de operare. În cazul în care instrumentul semnalează faptul că serul de control are o valoare care se situează în afara

intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetată. Rezultatele anterioare vor fi corectate în mod automat.

Dacă rezultatul serului de control continuă să se situeze în afara intervalului acceptabil, apălați Suportul Științific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprimă rezultatul ca fiind un INDICE (raport dependent de lot între valoarea OD a probei și cea a Cut-off) memorat în instrument.

Rezultatul serului de testare poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: atunci când raportul este > 1.1

NEGATIV: atunci când raportul este < 0.9

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse între 0.9 și 1.1

În cazul unui rezultat incert/echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul testului rămâne în continuare incert/echivoc, recoltați o nouă probă după 1-2 săptămâni.

11. LIMITARI

Testul nu poate fi utilizat ca unică metodă pentru un diagnostic clinic. Rezultatele negative nu pot exclude o posibilă infecție. Probele de ser recoltate în timpul etapei acute a infecției pot indica rezultate negative în cazul testării prin această metodă, deoarece seroconversia poate dura chiar și săptămâni (3-4) până la apariția efectivă. În cazul rezultatelor pozitive, se recomandă analizarea unei a doua probe obținute 8-14 zile mai târziu, pentru a verifica o posibilă creștere a numărului de anticorpi de clasă IgA. Cu toate acestea, rezultatele testului trebuie interpretate cu prudență și utilizate în relație cu informațiile disponibile în urma evaluării clinice și cu cele provenite prin alte proceduri de diagnosticare.

12. SPECIFICITATEA ANALITICĂ

Au fost testate următoarele 11 probe conținând substanțe potențial interferente:

Trigliceride (n=2)
Proteina C Reactivă (n=7)
Factor reumatoid (n=2)

Prezența, în serul testat, a substanțelor interferente menționate mai sus, nu a modificat rezultatele testului.

13. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

În cadrul unui experiment, 81 de probe au fost testate atât cu kitul DIESSE, cât și cu un alt kit disponibil pe piață; probele indicând rezultate discordante au fost confirmate utilizând un test de imunofluorescență.

Mai jos sunt expuse pe scurt datele experimentului:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	16	3	19
	-	0	62	62
	Total	16	65	81

Sensibilitatea Diagnosticului: 100.0 % CI_{95%}: 80.6 – 100.0

Specificitatea Diagnosticului: 95.4 % CI_{95%}: 87.3 – 98.4

14. PRECIZIA

PRECIZIA IN CADRUL CICLULUI DE RULARE

	Replicate	Media	SD	CV%
Lot 616-S	15	2.4	0.24	10.0
Lot 617-S	15	3.1	0.26	8.4
Lot 618-S	15	2.7	0.20	7.4

PRECIZIA INTRE CICLURILE DE RULARE

	Proba	Medie	SD	CV%
Lot 616-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	0.9	0.10	11.1
	Standard 3	3.1	0.17	5.5
Lot 617-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.15	15.0
	Standard 3	3.4	0.12	3.5
Lot 618-S	Standard 1	0.3	0.00	N/A
	Standard 2	1.0	0.17	17.0
	Standard 3	3.3	0.50	15.2

N/A –CV% nu poate fi calculata deoarece media corespunde cu 0 (impartire la 0)

15. BIBLIOGRAFIE

1. Wu and Nemerow (2004). Virus yoga: the role of flexibility in virus host cell recognition. Trends Microbiol 12: 162–168. DOI:10.1016/j.tim.2004.02.005.
2. Meier and Greber (2004). Adenovirus endocytosis. J Gene Med 6: S152–S163. DOI:10.1002/jgm.553.
3. Hierholzer, J. C. und Tannock, G. A. Adenoviruses. in Rose, N. R., Friedman, H. und Fahey, J. L. (Eds.) Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, 3rd ed. (1986) 527-531.
4. Pachucki C.T. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
5. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H., Smith T.S., 587-601, (1999).
6. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
8. R. Zieglermaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. GLOSARUL SIMBOLURILOR DE ETICHETARE

	Data productiei
	A se utiliza de catre
	A nu se reutiliza
	Atentie, consultati documentele insotitoare.
	Producator
	Continut suficient pentru <n> teste
	Limitari de temperatura
	A se consulta instructiunile de utilizare
	Riscuri biologice
	Numar de catalog
	Dispozitiv medical de diagnosticare In vitro
	Cod lot



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy



