



CHORUS

RUBELLA IgM

REF 81031 (36 tests)

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
 DIESSE Diagnostica Senese
 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	4



INDICE / INDEX / ÍNDICE

1. UTILIZZAZIONE / INTENDED USE/ INDICACIONES DE USO / FINALIDADE
2. INTRODUZIONE / INTRODUCTION / RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA / INTRODUÇÃO
3. PRINCIPIO DEL METODO / PRINCIPLE OF THE METHOD / PRINCIPIO DEL MÉTODO / PRINCIPIO DE AÇÃO
4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI / KIT COMPOSITION AND REAGENTS PREPARATION / COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO / REAGENTES DO KIT E PREPARO
5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI / STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS / CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS / CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES
6. PRECAUZIONI / PRECAUTIONS / PRECAUCIONES DE USO / PRECAUÇÕES
7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE / TYPE AND STORAGE OF SAMPLE / TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACION / TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS
8. PROCEDIMENTO / PROCEDURE /PROCEDIMIENTO / PROCEDIMENTO DO TESTE
9. VALIDAZIONE DEL TEST / TEST VALIDATION / VALIDACIÓN DE LA PRUEBA / ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO
10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI / INTERPRETATION OF THE RESULTS / INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS / INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA /LIMITATIONS OF THE PROCEDURE / LIMITACIONES / LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO
12. SPECIFICITA' ANALITICA / ANALYTICAL SPECIFICITY / ESPECIFICIDAD ANALÍTICA / ESPECIFICIDADE ANALÍTICA
13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA / DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY/ SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO / SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA
14. PRECISIONE / PRECISION / REPRODUCIBILIDAD / PRECISÃO
15. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DEGLI ANTICORPI IgM ANTI VIRUS DELLA ROSOLIA NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS

2. INTRODUZIONE

Il virus della Rosolia provoca nell'uomo una malattia contagiosa molto comune caratterizzata da esantema diffuso. Il decorso è generalmente breve e privo di complicazioni. Se la malattia è invece contratta durante la gravidanza ci sono conseguenze per il feto in quanto il virus è teratogeno e provoca gravi malformazioni specialmente durante il primo mese di gestazione. Per questo motivo è essenziale conoscere lo stato immunitario della paziente prima di una gravidanza, in quanto si può procedere alla vaccinazione o, se questa è impossibile, al frequente monitoraggio per osservare l'eventuale sieroconversione. Esistono numerosi metodi per effettuare il dosaggio delle immunoglobuline specifiche (1). L'ELISA è uno di questi ed ha il vantaggio della completa automazione. La diagnosi sierologica di Rosolia può essere effettuata dosando le IgM specifiche in quanto questi anticorpi, abbinati ai sintomi clinici, hanno un considerevole significato diagnostico.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

L'antigene, costituito dal Virus della Rosolia purificato ed inattivato, viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito in un diluente bloccante le IgG, le IgM 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 IgM umane coniugate con perossidasi di rafano.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

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

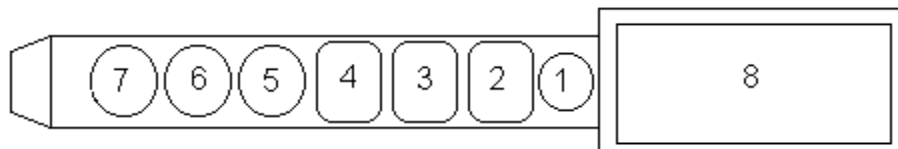
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna.

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.



Descrizione:

Posizione 8: spazio disponibile per etichette con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA SENSIBILIZZATO con Antigene purificato da Rubella Virus

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8).

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

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

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO dove l'utilizzatore deve dispensare il siero indiluito.

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
- Strumento Chorus / Chorus Trio
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl
- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di una 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 sull'etichetta del dispositivo.

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

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

6. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO. CONSERVARE A 2-8°C

Attenzione:

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati da 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 legge vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS.
2. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato contiene fenolo
 - b) Il substrato è acido
 Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
3. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente ad ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti è normalmente sufficiente per garantire una disinfezione efficace.

4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, 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 pulire 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 e l'esatta collocazione 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 e non utilizzare dispositivi con etichette difettose.
7. Codice a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
8. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione.
9. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
10. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
11. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura)
12. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.

7. TIPO DI CAMPIONE 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. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. 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, emolizzati o inquinati non dovrebbero essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prendere 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 6 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero indiluito 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 range 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 DEI RISULTATI

Lo Strumento Chorus fornisce il risultato in INDEX (rapporto fra il valore della D.O. del campione in esame e quello del Cut-off) che può essere impiegato come una misura quantitativa essendo proporzionale alla quantità di IgM specifiche.

Il campione risulterà:

Negativo: quando il risultato è < 0.9

Dubbio: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

Positivo: quando il risultato è > 1.1

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Sieri prelevati prima di 5 giorni dopo l'inizio dei sintomi, potrebbero contenere livelli insufficienti di IgM per dare un risultato positivo nel presente test.

Poiché gli anticorpi IgM materni non attraversano la placenta, la presenza di IgM virus-specifiche nel neonato sono da ritenere il risultato di un'infezione congenita. Data la possibilità di contaminazione del sangue del cordone da parte di IgM materne, è consigliabile confermare un risultato positivo per le IgM nel sangue del cordone, attraverso un secondo prelievo dal neonato.

E' stata riportata recentemente una risposta anticorpale di tipo IgM anti-Rosolia in una piccola percentuale di pazienti affetti da mononucleosi infettiva, alcuni dei quali presentavano una stretta specificità per alcuni ceppi di virus della rosolia. Si ritiene che la stimolazione policlonale da parte dell'EBV delle cellule B-memoria possa essere responsabile in qualche caso di risposte anticorpali eterotipiche della classe IgM. I risultati devono essere sempre interpretati insieme ad altri provenienti dalla valutazione clinica e da altre indagini diagnostiche.

Sieri di pazienti che si trovano in una fase precoce o tardiva della malattia, potrebbero dare un risultato ripetutamente negativo vicino al valore soglia del cut-off; in tal caso si raccomanda di verificare il risultato, dosando un nuovo campione prelevato ad un intervallo di 7-10 giorni dal primo.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

La presenza nel campione di siero di potenziali interferenti come: Fattore Reumatoide, Bilirubina, Trigliceridi e campioni emolitici, non altera il risultato del test. In una campionatura di sieri provenienti da donne in stato di gravidanza non si sono verificate alterazioni nel risultato del test.

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

Nella sperimentazione, sono stati analizzati 431 campioni con il Kit DIESSE e un kit di riferimento commerciale.

I risultati positivi o discordanti sono stati confermati con un terzo test

Di seguito sono schematizzati i risultati della sperimentazione:

Tabella 1.

		Riferimento		Totale
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Totale		76	355	431

Il kit ha una specificità del 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) e una sensibilità del 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3)

14. PRECISIONE

Tabella 2. Precisione all'interno della seduta

Campione	INDEX	DS	CV%
Controllo positivo	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabella 3. Precisione tra sedute

Campione	Media Index					Media	DS	CV%
	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8

RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. **BIBLIOGRAFIA**

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(English)

1. INTENDED USE

QUALITATIVE DETERMINATION OF IgM-CLASS ANTIBODIES TO RUBELLA VIRUS IN HUMAN SERUM USING A DISPOSABLE DEVICE APPLIED ON THE CHORUS INSTRUMENTS

2. INTRODUCTION

Rubella virus causes a very common infectious disease in man, accompanied by a typical diffused rash. The course of the illness is generally short and without complications. However, it is harmful for the fetus if contracted during pregnancy, because the virus is teratogenic and may cause very serious malformations especially during the first month of pregnancy. It is therefore essential to determine the patient's immune status before the start of pregnancy, if possible, in order to perform vaccination or, if this is impossible, to monitor the course of the pregnancy to observe whether seroconversion occurs. Several methods are employed for the assay of specific immunoglobulins (1). ELISA is one of these, and has the advantage of being completely automated. The serological diagnosis of Rubella may be performed with the assay of specific IgM because these antibodies, together with the clinical symptoms, are of considerable diagnostic relevance.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the ELISA technique (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

The antigen, composed of purified and inactivated Rubella Virus, is bound to the solid phase. Through incubation with human serum diluted in a diluent blocking the IgG, the specific IgM are bound to the antigen.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of human IgM monoclonal antibodies conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added.

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

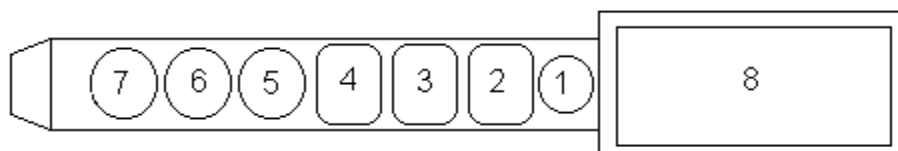
The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments.

4. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

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



Description:

Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL coated with Rubella Virus purified Antigen

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: DILUENT FOR THE SAMPLES

Contents: Proteic solution containing anti human IgG serum, phenol 0.05%, Bronidox 0.02% and an indicator to reveal the presence of the serum.

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL in which the operator must place the undiluted serum

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration, containing Proclin and Gentamycin, **liquid ready for use.**

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

Contents: 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
- Chorus / Chorus Trio Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

5. 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 point 9, Test validation).

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

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation:

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

6. PRECAUTIONS

ONLY FOR DIAGNOSTIC USE IN VITRO.

Attention:

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. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instrument.
2. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate 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.
3. 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 1.0%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
4. 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 be used 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. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
8. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
9. The use of strongly hemolyzed samples, or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
10. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
11. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
12. Do not use the device after the expiry date

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

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. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples should be avoided.

The test cannot be applied to plasma.

8. 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 the Analytical Warnings 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 (ratio between the OD value of the test sample and that of the Cut-Off) which can be used as a quantitative measure, as it is proportional to the amount of specific IgM present.

The results can be interpreted as follows:

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL: when the result is between 0.9 and 1.1

POSITIVE: when the ratio is > 1.1

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

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Specimens collected earlier than 5 days after onset of symptoms may not contain sufficient IgM antibody to be positive in the test.

Since maternal IgM antibody does not cross the placenta, virus-specific IgM antibody in the new-born can be assumed to be a result of congenital infection. Because of the possibility of contamination of cord blood with maternal IgM, it is prudent to confirm positive viral IgM antibody results on cord blood samples by testing a follow-up specimen from the infant. Rubella IgM antibody responses recently have been reported in a small proportion of patients with infectious mononucleosis; some of these showed narrow specificity for certain strains of Rubella virus. Polyclonal stimulation of B memory cells by EBV was considered in some cases to be a possible mechanism for heterotypic IgM antibody responses.

The results must always be interpreted together with the clinical picture and data from other diagnostic investigations. Sera from patients in an early or late stage of the disease could give a repeatedly negative result close to the Cut-off value. In such cases, a confirmation of the result is recommended, by testing a new sample drawn from the same patient at 7-10 days interval from the first sample.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The presence in the samples of potentially interfering substances such as Rheumatoid factor, Bilirubin, Triglycerides and haemolytic samples does not influence the result. No influence on the result was verified in the test of sera samples from women during pregnancy.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

431 samples were tested in the experimentation both with the Diesse kit and with another commercial reference kit.

The samples that gave positive results or were in disagreement, were confirmed with another test.

The results are summarized in the following table.

Table 1.

		Reference		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

The kit shows a specificity of 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) and a sensitivity of 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3).

14. PRECISION

Table 2. Within-run precision

Sample	INDEX	SD	CV%
Positive control	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Table 3. Between-run precision

Sample	Mean Index					Mean	SD	CV%
	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell ,: Detection of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

1. NÁVOD NA POUŽITÍ

KVALITATIVNÍ STANOVENÍ PROTILÁTEK TŘÍDY IgM PROTI RUBEOLA VIRU V LIDSKÉM SÉRU POMOCÍ JEDNORÁZOVÉHO NÁSTROJE APLIKOVANÉHO DO ZAŘÍZENÍ CHORUS

2. ÚVOD

Virus rubeoly způsobuje u člověka velmi běžné infekční onemocnění, doprovázené typickou difúzní vyrážkou. Průběh nemoci je obecně krátký a bez komplikací. Je však nebezpečný pro plod, jestliže dojde k infekci během těhotenství, protože je tento virus teratogenní a může způsobit velmi vážné malformace především v prvním měsíci těhotenství. Proto je důležité stanovit ještě před otěhotněním pacientčin imunitní stav, pokud je to možné, aby se provedla vakcinace, nebo je třeba sledovat průběh těhotenství, neobjeví-li se sérokonverze. Testování přítomnosti specifických imunoglobulinů (1) se provádí několika metodami. Jednou z nich je ELISA, jejíž výhodou je plná automatizovanost. Serologickou diagnózu rubeoly lze provádět stanovením specifických IgM protilátek, protože tyto protilátky mají, spolu s klinickými symptomy, značnou diagnostickou relevanci.

3. PRINCIP METODY

Test je založen na principu ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Antigen, složený z čištěného a inaktivovaného rubeola viru, je vázán na pevnou bázi. Prostřednictvím inkubace s lidským sérem naředěným v diluentu blokujícím IgG, se na antigen naváže specifické IgM protilátky.

Po promytí, při kterém dojde k eliminaci bílkovin, které nereagovaly, se provede inkubace s konjugátem, složeným z lidských monoklonálních IgM protilátek konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Dochází k odstranění nevázaného konjugátu a přidání peroxidázového substrátu.

Vzniklé modré zabarvení je úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

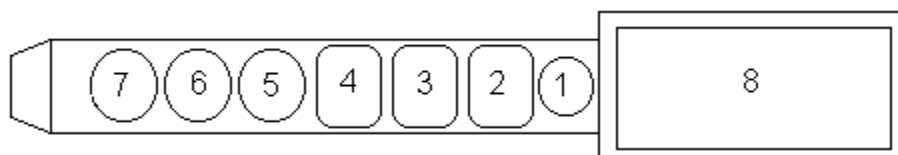
Jednorázový nástroj obsahuje veškeré reagensie nutné k provedení testu pomocí zařízení Chorus.

4. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava stačí na 36 testů.

DD NÁSTROJ 6 balení po 6 nástrojích

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.



Popis:

Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná.

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA potažená purifikovaným antigenem rubeola viru.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetrametylbenzidín 0.26 mg/mL a H₂O₂ 0.01% stabilizovaný v 0.05 mol/L citrátového pufru (pH 3.8).

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

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

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA, do níž operátor umístí neředěné sérum.

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 KONTROLNÍ SÉRUM 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

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

5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2–8°C. Skladujete-li reagencie 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.

Po otevření nebo přípravě mají reagencie omezenou stabilitu:

NÁSTROJ	8 týdnů při teplotě 2–8°C.
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2–8°C.
POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM	8 týdnů při teplotě 2–8°C.

6. UPOZORNĚNÍ**URČENO POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.****Pozor:**

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 přítomni, 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 nástroji obsahujícími materiál lidského původu je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat tak, jak je v tomto případě vyžadováno.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

5. Nepipetujte ústy. Při nakládání se vzorky mějte vždy nasazené jednorázové rukavice a ochranu očí. Po umístění nástrojů do zařízení CHORUS si vždy důkladně umyjte ruce.
6. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých substancí:
 - c) konjugát obsahuje fenol,
 - d) substrát je kyselina.
 Přijde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
7. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
8. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve ořtením vysušit. Materiály

použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiály obsahující chlornan sodný nevracíte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

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

7. TYP A SKLADOVÁNÍ VZORKU

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 není možné aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, jej opět uzavřete.
2. Podle instrukcí pod body 1 a 8 uvedenými v Analytických varováních 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 na obsluhu zařízení Chorus.

9. POTVRZENÍ TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte jej v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, test 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 (poměr mezi OD hodnotou testovaného vzorku a Cut-Off hodnotou), který lze použít jako kvantitativní míru, protože je proporcionální množství přítomných specifických IgM.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.1.

NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.9.

SPORNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.9 a 1.1.

V případě sporného výsledku test zopakujte. Je-li test i nadále sporný, seberte nový vzorek.

11. OMEZENÍ PROCEDURY

Vzorky nasbírané méně než 5 dní po nástupu symptomů nemusí obsahovat dostatečné množství IgM protilátek, aby vyšly při testování pozitivně.

Protože IgM protilátky matky neprojdou placentou, mohou se virus-specifické IgM protilátky u novorozence považovat za výsledek vrozené infekce. Protože existuje možnost kontaminace pupečnickové krve IgM protilátkami matky, je rozumné potvrdit pozitivní výsledky na virové IgM protilátky v pupečnickové krvi otestováním dalších vzorků od dítěte. V poslední době byla zjištěna odezva IgM protilátek proti rubeole u malého počtu pacientů trpících infekční mononukleózou; někteří z těchto pacientů vykazovali nízkou specifitu pro určité rubeolové kmeny. Polyklonální stimulace B paměťových buněk pomocí EBV byla v některých případech považována za možný mechanismus heterotypické odezvy IgM protilátek.

Výsledky zkoušky je nutné interpretovat vždy společně s klinickým obrazem a ostatními daty získanými jinými diagnostickými postupy.

Séra od pacientů v časném nebo pokročilém stádiu onemocnění mohou dát opakovaně negativní výsledek blížíci se Cut-off hodnotě. V takových případech doporučujeme provést konfirmační testování nového vzorku, získaného od stejného pacienta v intervalu 7–10 dní od sběru prvního vzorku.

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Přítomnost potenciálně rušivých substancí ve vzorku, jako jsou bilirubin, revmatický faktor, triglyceridy a hemolytické vzorky nemají na výsledek testu vliv. Nebylo ani zjištěno ovlivnění výsledku testu při použití sérových vzorků od těhotných žen.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFICITA

431 vzorků bylo testováno společně touto soupravou Diesse a další komerční referenční soupravou.

Vzorky, které ukázaly pozitivní výsledek nebo se lišily, byly potvrzeny dalším testem.

Výsledky shrnuje tabulka níže.

Tabulka 1

		Reference		Celkem
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Celkem		76	355	431

Souprava vykazuje 98.9% specifitu ($CI_{95\%}$: 97.1 – 99.6) a citlivost 97.4 % ($CI_{95\%}$: 90.9 – 99.3).

14. PŘESNOST

Tabulka 2. Přesnost v rámci testu

Vzorek	INDEX	SO	CV %
Pozitivní kontrola	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabulka 3. Přesnost mezi měřeními

Vzorek	Střední index					Průměr	SO	CV %
	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Sérum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Sérum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. kon.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. 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

16. POUŽITÁ LITERATURA

7. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
8. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
9. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
10. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
11. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830.
12. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.

CE
0123

DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena) Italy
Tel. 0577-587111



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Deutsch)

1. VERWENDUNGSZWECK

QUALITATIVE BESTIMMUNG DER ANTI-RÖTELNVIRUS-IgM-ANTIKÖRPER IM HUMANSERUM MIT EINEM EINWEG-TESTMODUL, DAS IN KOMBINATION MIT CHORUS LABORANALYSATOREN VERWENDET WIRD.

2. EINLEITUNG

Das Rötelnvirus bewirkt beim Menschen eine ansteckende, weit verbreitete Krankheit, die durch ein diffuses Exanthem gekennzeichnet ist. Der Verlauf ist normalerweise kurz und komplikationslos. Wenn die Krankheit hingegen während der Schwangerschaft erworben wird, hat dies Folgen für den Fetus, weil das Virus teratogen ist und vor allem während des ersten Schwangerschaftsmonats zu schweren Missbildungen führt. Aus diesem Grund ist es unerlässlich, den Immunitätsstatus der Patientin bereits vor einer Schwangerschaft zu kennen, weil so entweder eine Impfung verabreicht oder, wenn dies nicht möglich ist, durch häufige Überwachung eine eventuelle Serokonversion erkannt werden kann. Es gibt zahlreiche Methoden für die quantitative Bestimmung der spezifischen Immunglobuline (1). Die ELISA-Methode ist eine davon und hat den Vorteil der vollkommen automatischen Durchführung. Die serologische Diagnostik von Röteln kann durch die quantitative Bestimmung der spezifischen IgM erfolgen, weil diese Antikörper in Kombination mit den klinischen Symptomen eine hohe diagnostische Bedeutung haben.

3. TESTPRINZIP

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

Das gereinigte und inaktivierte Rötelnvirus-Antigen wird an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit Humanserum, das mit einem Verdünnungsmittel versetzt wurde, das die IgG-Antikörper blockiert, binden die spezifischen IgM-Antikörper an das Antigen.

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

Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

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

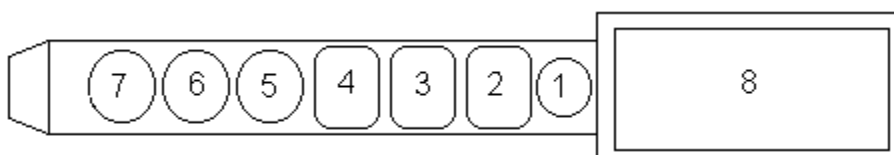
Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus Laboranalysator durchführen zu können.

4. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

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.



Beschreibung:

Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: mit gereinigtem Rubella-Virus-Antigen sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Position 5: nicht sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Position 4: TMB SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Proteinlösung mit Anti-human-IgG-Serum mit 0.05 % Phenol, 0.02% Bronidox und einem Indikator, der das Vorhandensein von Serum erfasst

Position 2: KONJUGAT

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

Position 1: LEERE VERTIEFUNG, in die der Bediener das unverdünnte Serum füllt

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
- Chorus Laboranalysator/Chorus Trio
- 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

5. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

Das Verfalldatum steht auf dem Etikett auf dem Testmodul.

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

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

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT. BEI 2–8°C AUFBEWAHREN

Achtung:

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

5. Nicht mit dem Mund pipettieren. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
6. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:

- c) Das Konjugat enthält Phenol
- d) Das Substrat ist sauer

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

7. 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 ist normalerweise für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichend.
8. 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 gereinigt werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Reinigung 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 sich die Reagenzien im Testmodul an der richtigen Stelle befinden 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. Keine Testmodule mit beschädigten Etiketten verwenden.
7. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
8. Die Testmodule während der Aufbewahrung keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
9. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
10. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
11. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
12. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

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. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. 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, hämolytische oder kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Der Test ist nicht bei humanem 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 6 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 DER ERGEBNISSE

Der Chorus Laboranalysator liefert das Ergebnis als INDEX (Verhältnis zwischen dem Messwert der OD der untersuchten Probe und dem des Cut-off), der als quantitatives Maß verwendet werden kann, da er sich proportional zur Menge der spezifischen IgM-Antikörper verhält.

Die Probe ist:

Negativ: bei Ergebnis <0.9

Grauzone: bei Ergebnis zwischen 0.9 und 1.1

Positiv: bei Ergebnis >1.1

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

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Seren, die früher als 5 Tage nach Beginn der Symptome entnommen werden, können unzureichende Mengen an IgM-Antikörpern für ein positives Ergebnis dieses Tests enthalten.

Da die mütterlichen IgM-Antikörper nicht über die Plazenta auf das Kind übertragen werden, ist die Präsenz spezifischer IgM-Antikörper bei Neugeborenen als das Ergebnis einer kongenitalen Infektion zu betrachten. Da die Möglichkeit einer Kontamination des Nabelschnurbluts mit mütterlichen IgM-Antikörpern besteht, wird empfohlen, ein IgM-positives Ergebnis des Nabelschnurbluts durch eine zweite Entnahme beim Neugeborenen zu bestätigen.

Kürzlich wurde bei einem geringen Prozentsatz von Patienten mit infektiöser Mononukleose von einer Anti-Röteln-IgM-Antikörperreaktion berichtet. Einige davon zeigten eine enge Spezifität für einige Rötelnvirusstämme. Es wird angenommen, dass die polyklonale Stimulierung der B-Gedächtniszellen durch das EBV in einigen Fällen für heterotypische Antikörperreaktionen der Klasse IgM verantwortlich sein kann. Die Ergebnisse müssen immer zusammen mit anderen Ergebnissen der klinischen Auswertung und anderen diagnostischen Untersuchungen interpretiert werden.

Seren von Patienten, die sich in einem sehr frühen oder späten Stadium der Krankheit befinden, könnten ein wiederholt negatives Ergebnis in der Nähe des Schwellenwerts des Cut-off zeigen; in diesem Fall wird empfohlen, das Ergebnis zu prüfen, indem eine neue, 7–10 Tage nach der ersten Probe entnommene Probe analysiert wird.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Die Präsenz von potentiellen Interferenten in der Serumprobe (Rheumafaktor, Bilirubin, Triglyceride und hämolytische Proben) hat keinen Einfluss auf das Testergebnis. Bei einem Probenahmeverfahren mit Seren von Frauen während der Schwangerschaft kam es zu keinen Beeinträchtigungen der Testergebnisse.

13. DIAGNOSTISCHE SENSIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Beim Versuch wurden 431 Proben mit dem Testsatz DIESSE und einem im Handel erhältlichen Referenztestsatz analysiert.

Die positiven oder nicht übereinstimmenden Ergebnisse wurden mit einem dritten Test bestätigt.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsergebnisse aufgeführt:

Tabelle 1.

		Referenz		Insgesamt
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
	Insgesamt	76	355	431

Die Spezifität des Testsatzes beträgt 98.9 % (CI_{95 %}: 97.1–99.6) und die Sensivität 97.4 % (CI_{95 %}: 90.9–99.3)

14. PRÄZISION**Tabelle 2. Präzision innerhalb eines Durchlaufs**

Probe	INDEX	SD	CV %
Positive Kontrolle	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabelle 3. Präzision zwischen Durchläufen

Probe	Mittelwert Index					Mittelwert	SD	CV %
	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. Kon.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. 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

16. LITERATUR

7. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
8. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).

9. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
10. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
11. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992,p.824-830
12. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802



Diesse Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena) – Italien
Tel. 0039-0577-587111



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Ελληνικά)

1. ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ IgM ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΑΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΜΕ ΣΕΤ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗ ΣΥΣΚΕΥΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ CHORUS.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός της Ερυθράς προκαλεί στον άνθρωπο μία πολύ κοινή μεταδοτική νόσο κύριο χαρακτηριστικό της οποίας είναι ένα διάχυτο εξάνθημα σε όλο το σώμα. Η διάρκειά της είναι γενικά σύντομη και δεν παρουσιάζει επιπλοκές. Αν όμως η νόσος παρουσιαστεί κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης υπάρχουν επιπτώσεις για το έμβρυο επειδή ο ιός είναι τερατογόνος και μπορεί να προκαλέσει ατελείς διαπλάσεις βαριάς μορφής, ειδικά κατά τον πρώτο μήνα της κύησης. Γι' αυτό τον λόγο είναι απαραίτητο να είναι γνωστή η ανοσολογική κατάσταση της ασθενούς πριν από την εγκυμοσύνη επειδή έτσι μπορεί να γίνει εμβολιασμός ή, αν αυτό δεν είναι δυνατό, να γίνει συνεχής παρακολούθηση για να επισημανθεί μία πιθανή ορομετατροπή. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι προσδιορισμού των ειδικών ανοσοσφαιρινών. (1). Η ELISA είναι μία από αυτές και έχει επιπλέον το πλεονέκτημα ό,τι είναι τελείως αυτόματη. Η ορολογική διάγνωση της Ερυθράς μπορεί να γίνει προσδιορίζοντας τα ειδικά IgM επειδή αυτά τα αντισώματα, σε συνδυασμό με τα κλινικά συμπτώματα, έχουν μεγάλη διαγνωστική σημασία.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ βασίζεται στην αρχή ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Το αντιγόνο, αποτελούμενο από αδρανοποιημένο και κεκαθαρμένο ιό Ερυθράς, συνδέεται με τη στερεά φάση.

Μέσω επώασης σε ανθρώπινο ορό αραιωμένο με διαλύτη που αναστέλλει τα ειδικά αντισώματα IgG, τα ειδικά αντισώματα IgM συνδέονται με το αντιγόνο.

Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές που αποτελείται από ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι IgM συζευγμένα με υπεροξειδάση ραφανίδων.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.

Το μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων που βρίσκονται στον υπό εξέταση ορό.

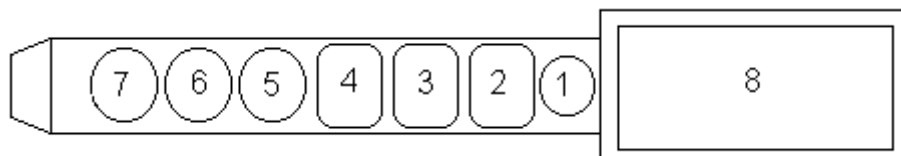
Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus.

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το όλο κιτ καλύπτει 36 τεστ.

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

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



Περιγραφή:

ΘΕΣΗ 8: χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού

ΘΕΣΗ 7: Άδεια

ΘΕΣΗ 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ με κεκαθαρμένο Αντιγόνο ιού Ερυθράς

ΘΕΣΗ 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ μη ευαισθητοποιημένη.

ΘΕΣΗ 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

ΘΕΣΗ 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει ορό με ανθρώπινα αντισώματα αντι IgG, με φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02% και ένα δείκτη ανίχνευσης της παρουσίας του ορού.

ΘΕΣΗ 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

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

ΘΕΣΗ 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, 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.

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
- Συσκευή Chorus / Chorus Trio
- 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.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια 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 σετ και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

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

ΣΥΣΚΕΥΕΣ 8 εβδομάδες σε 2/8°C

ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 8 εβδομάδες σε 2/8°C

ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 8 εβδομάδες σε 2/8°C

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Προσοχή:

Αυτή η συσκευασία 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.

Διαχείριση των κατάλοιπων: τα δείγματα του ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως κατάλοιπα δυνητικά μολυσματικά και να απορρίπτονται σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μετά από κάθε τοποθέτηση των σετ στο CHORUS.
2. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - α) το συζυγές περιέχει φαινόλη
 - β) το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
3. 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.
4. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η επιφάνεια να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την διαδικασία ανάλυσης. Αν τα υγρά περιείχαν ένα οξύ, τότε στεγνώστε πολύ καλά την επιφάνεια πριν χρησιμοποιήσετε το υποχλωριώδες νάτριο. 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 της.
 1. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
 2. Μην πειράζετε και μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης barcode να τον διαβάσει σωστά.
 3. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
 4. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
 5. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
 6. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
 7. Περάστε τον ορό που θα αναλυθεί (50 µl) στην κυψελίδα 1 του σετ (βλ. εικόνα).
 8. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

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 μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C. Αποφεύγετε τη χρήση αυτο-αποψυχόμενων ψυγείων για τη συντήρηση των δειγμάτων. 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 αιμόλυση, με ίκτερο, λιπαιμικά ή μολυσμένα, δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται.

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 σετ χρειάζεστε 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. 6 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 τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ότι 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 το αποτέλεσμα σε INDEX (λόγος της τιμής του D.O. του υπό ανάλυση δείγματος προς αυτήν του Cut-off) και που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ποσοτική μέτρηση, καθώς είναι ανάλογος προς την ποσότητα των ειδικών IgM.

Το δείγμα ορού μπορεί να αποδειχθεί:

ΘΕΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι > 1.1

ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι < 0.9

ΑΜΦΙΒΟΛΟ: Όταν ο δείκτης περιλαμβάνεται μεταξύ 0.9 και 1.1

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ορός που συλλέχθηκε πριν περάσουν 5 ημέρες από την εμφάνιση των συμπτωμάτων, μπορεί να μην περιέχει επαρκή αριθμό IgM ώστε να δώσει θετικό αποτέλεσμα στο παρόν τεστ.

Επειδή τα μητρικά αντισώματα IgM δεν διαπερνούν τον πλακούντα, η παρουσία στο νεογνό ειδικών αντισωμάτων IgM στον ιό, πρέπει να θεωρηθεί ως δείγμα συγγενούς λοίμωξης. Επειδή υπάρχει πιθανότητα μόλυνσης του αίματος του ομφάλιου λώρου από IgM της μητέρας, συνιστάται η επιβεβαίωση του θετικού αποτελέσματος των IgM στο αίμα του ομφάλιου λώρου μέσω μίας δεύτερης αιμοληψίας από το νεογνό.

Αναφέρθηκαν πρόσφατα θετικές απαντήσεις για αντισώματα IgM αντι-Ερυθράς, σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών που έπασχαν από λοιμώδη μονοπυρήνωση. Μερικές από αυτές παρουσίαζαν μία εστιασμένη ειδικότητα με μερικά στελέχη του ιού της ερυθράς. Θεωρείται ότι η μονοκλωνική διέγερση κυττάρων Β-μήνης από το EBV, μπορεί να είναι η αιτία, σε μερικές περιπτώσεις, ετερότυπων απαντήσεων για αντισώματα IgM. Τα αποτελέσματα πρέπει να συνεκτιμούνται μαζί με άλλα δεδομένα που προέρχονται από κλινική αξιολόγηση και από άλλες διαγνωστικές αναλύσεις.

Οροί ασθενών που βρίσκονται στο πρώτο ή σε προχωρημένο στάδιο της νόσου, μπορεί να δώσουν αποτέλεσμα κατ' επανάληψη αρνητικό, κοντά στην οριακή τιμή κατωφλίου (Cut-Off). Σε τέτοια περίπτωση συνιστάται η εξακρίβωση του αποτελέσματος αναλύοντας ένα νέο δείγμα σε χρονικό διάστημα 7-10 ημερών από το πρώτο.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Η παρουσία στα δείγματα δυνητικά παρεμβαλλόμενων ουσιών, όπως Ρευματοειδής Παράγων, Χολερυθρίνη, Τριγλυκερίδια και αιμολυτικά δείγματα δεν είχε επίδραση στο αποτέλεσμα.

Σε μία σειρά δειγμάτων ορών από εγκύους, δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στο αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων αναλύθηκαν 431 δείγματα με το Κιτ Diesse και παράλληλα με ένα εμπορικό κιτ αναφοράς. Τα δείγματα που προέκυψαν θετικά, καθώς και εκείνα που παρουσίασαν ασύμφωνα αποτελέσματα, αναλύθηκαν και για τρίτη φορά.

Τα αποτελέσματα των τεστ συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 1.

		ΑΝΑΦΟΡΑ		Σύνολο
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
	Σύνολο	76	355	431

Το κιτ παρουσιάζει ειδικότητα 98.9% (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) και ευαισθησία 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3)

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ**Πίνακας 2. Ακρίβεια κατά την ανάλυση**

Δείγμα	INDEX	Τυπ. Απόκλιση	CV%
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΘΕΤΙΚΟΣ	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Πίνακας 3. Ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων

Δείγμα	Media Index					Μ. Τιμή	Τ. Απ.	CV%
	Ανάλ. 1	Ανάλ. 2	Ανάλ. 3	Ανάλ. 4	Ανάλ. 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgM ANTI VIRUS DE LA RUBÉOLA EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus de la Rubéola causa una enfermedad infecciosa muy común en los humanos, acompañados por un sarpullido difundido típico. El curso de la enfermedad es generalmente corto y sin complicaciones. Sin embargo, es muy perjudicial para el feto si es contraído durante el embarazo, debido al efecto teratogénico del virus que puede causar malformaciones muy graves especialmente durante el primer mes de embarazo.

Por esta razón es esencial determinar los títulos de anticuerpo antes del embarazo, para realizar la posible vacunación o, si esto es imposible, poder supervisar el curso del embarazo para detectar un proceso de seroconversión. Hay varios métodos para determinar la titulación de anticuerpos anti-Rubéola IgM, entre estos métodos está el ELISA que ofrece la ventaja de ser completamente automatizado.

El diagnóstico serológico de Rubéola puede ser realizado mediante la titulación de anticuerpos anti-Rubéola IgM específicos, conjuntamente con los síntomas clínicos, de considerable significado diagnóstico.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

El antígeno, constituido por Rubella Virus purificado e inactivo, está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido en un diluyente que bloquea la IgG, las IgM 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 humanos anti IgM conjugadas 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.

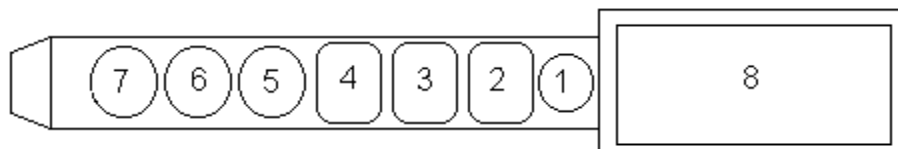
Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos necesarios para realizar la prueba en los instrumentos Chorus.

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno.

Uso: **equilibrar un envase a temperatura ambiente**, abrir el envase, 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.



Descripción:

Posición 8: espacio libre para etiquetas con códigos de barra

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA SENSIBILIZADO por Antígeno purificado de Virus de la Rubéola

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUBSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas que contiene anti-IgM humanas, fenol al 0.05% y Bronidox 0.02% y un marcador para revelar la presencia de suero.

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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
- Instrumento Chorus / Chorus Trio
- Agua Destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl de solución
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito del sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

5. 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 mediante suero de control (ver capítulo 9, Validación de la prueba)

La fecha de caducidad está impresa en la etiqueta del dispositivo.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la abertura y/o de la preparación:

DISPOSITIVOS	8 SEMANAS 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 SEMANAS 2/8°C
CALIBRADOR	8 SEMANAS 2/8°C

6. PRECAUCIONES DE USO

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Aviso:

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 se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, según disposiciones normativas vigentes.

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manejar las muestras. Lavar las manos a fondo después de colocar los dispositivos en el equipo CHORUS.
2. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado contiene fenol
 - b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entra en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.

3. 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.
4. 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 dispositivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso e 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 hondo.
3. Comprobar la presencia la colocación correcta 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 Chorus.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta y no utilizar dispositivos con etiquetas defectuosas..
7. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
8. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
9. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
10. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus verificar que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
11. Pipetear el suero examinado (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
12. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.

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 y no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes. 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, ictéricas, hemolizadas o contaminadas.

El test no se puede aplicar a plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre de 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. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 6, Precauciones Analíticas, puntos 1 y 8.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo nº1 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 las 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 indica el resultado en INDEX (relación entre el valor de la D.O. de la muestra y el del Cut-off) que puede ser empleado como medida cuantitativa por ser proporcional a la cantidad de IgM específica presente)

La prueba se considera:

No-inmune si el Index es < 0.9

Dudoso: para todos los valores entre 0.9 y 1.1

Inmune: si el Index es > 1.1

En caso de resultado dudoso, se aconseja repetir la prueba.

11. LIMITACIONES

Sueros recogidos antes de 5 días después de comienzos de los síntomas, podrían contener niveles insuficientes de IgM para dar un resultado positivo en esta prueba.

Ya que los anticuerpos IgM de la madre no atraviesan la placenta, la presencia de IgM virus-específicas en el infante se considera el resultado de una infección congénita. Dada la posibilidad de contaminación de la sangre del cordón por parte de las IgM de la madre, se sugiere confirmar un resultado positivo por medio de otra extracción de muestra del infante. Se ha reportado recientemente una respuesta de anticuerpos de tipo IgM anti-Rubéola en un pequeño porcentaje de pacientes afectados por mononucleosis infecciosa, algunos de los cuales presentaban una estrecha especificidad para algunos tipos de virus de la rubéola. Se considera que la estimulación policlonal del EBV de las células B-memoria pueda ser responsable en algún caso de respuestas heterotípicas de anticuerpos de la clase IgM. Los resultados de la prueba se deben utilizar conjuntamente con la información procedente de la evaluación clínica y de otros procedimientos de diagnóstico.

Sueros de pacientes en fase precoz o tardía de la enfermedad, podrían dar un resultado negativo repetidas veces, cerca del valor del Cut-Off. En estos casos se recomienda verificar el resultado, titulando una nueva muestra recogida 7-10 días después de la primera.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La presencia en las muestras de sustancias que potencialmente pudieran interferir como Factor Reumatoide, Bilirubina, Triglicéridos e Muestras hemolíticas no causan interferencias.

En muestras de suero procedentes de mujeres embarazadas no se encontraron alteraciones en el resultado del test.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

Durante la prueba, se analizaron 431 muestras con el kit DIESSE y con un kit de referencia comercial, y los resultados potitivos o discordantes fueron confirmados por una tercera prueba.

Los resultados están resumidos en la tabla siguiente :

Tab. 1

		Referencia		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

El kit tiene una especificidad del 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) y una sensibilidad del 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3).

14. REPRODUCIBILIDAD

Tab. 2 Reproducibilidad intra-ensayo

Muestra	INDEX	Desv. Estándar	CV%
Control positivo	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tab. 3 Reproducibilidad entre series

Muestra	Media Index					Media	Desv. Estándar	CV%
	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Serie 4	Serie 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG), IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830.
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.



NOTICE D'UTILISATION

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Français)

1. APPLICATION

DETERMINATION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgM ANTI-VIRUS DE LA RUBEOLE DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF MONO-USAGE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS

2. INTRODUCTION

Le virus de la Rubéole provoque une maladie contagieuse très commune chez les hommes, caractérisée par un exanthème diffus. En général, le cours de la maladie est bref et sans complications. Toutefois, si on la contracte pendant la grossesse, il y a des conséquences pour le fœtus, puisque le virus est tératogène et peut provoquer de graves malformations, surtout pendant le premier mois de la gestation.

Pour cette raison il est très important de connaître l'état immunitaire de la patiente pour effectuer la vaccination ou, si ça n'est pas possible, pour contrôler souvent la patiente de manière à observer l'éventuelle séroconversion.

Beaucoup de méthodes existent pour effectuer le dosage des immunoglobulines spécifiques. L'ELISA offre l'avantage d'être complètement automatique. Le diagnostic sérologique de la Rubéole peut être effectué en titrant les IgM spécifiques, puisque ces anticorps, associés avec les symptômes cliniques, sont de grande valeur diagnostique.

3. PRINCIPE

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

L'antigène, constitué du Rubéole purifiés et inactif, est lié à la phase solide. Par incubation avec sérum humain dilué dans un diluant bloquant les IgG, les IgM spécifiques se lient à l'antigène.

Après les lavages pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi on effectue l'incubation avec le conjugué constitué par les anticorps monoclonaux anti-IgM humaines conjugués avec peroxydase de raifort.

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

La couleur blue se développe proportionnellement à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum examiné.

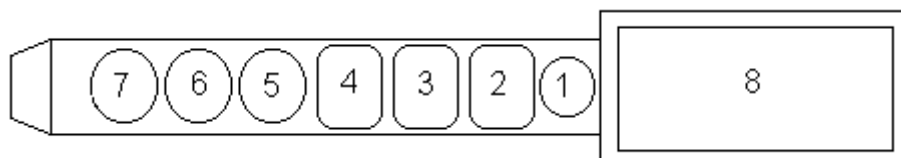
Les dispositifs mono usage contiennent tous les réactifs pour effectuer le test appliqué aux instruments Chorus.

4. CONTENU DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Un kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 confections contenant 6 dispositifs chacune.

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.



Description:

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

Position 7: Vide

Position 6: Puits de la microplaque sensibilisé avec Antigène purifiés de Rubéole

Position 5: Puits de la microplaque non sensibilisé

Position 4: SUBSTRAT TMB

Contenu: Tétraméthylbenzidine (à 0.26 mg/mL) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 0.01%) stabilisé dans un tampon citrate (à 0.05 mol/l), pH = 3.8

Position 3: DILUENT DES ECHANTILLONS

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

Position 2: CONJUGUE

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

Position 1: PUIITS VIDE dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.175 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage.**

CONTROL + CONTROLE POSITIF 1 x 0.425 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage.**

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
- Instrument Chorus / Chorus Trio
- Eau distillée ou désionisée
- Verrerie normale de laboratoire (éprouvette, pipette, etc..)
- Micropipette capable de prélever 50-200 µl de solution
- Gants mono-usage
- Solution d'hypochlorure de sodium (5%)
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectieux

5. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Conserver les réactifs à +2-8°C. En cas d'une température de conservation incorrecte, il faut répéter la calibration et contrôler le résultat à travers l'utilisation du sérum de contrôle (voir section 9, Validation du test). La date de péremption est imprimée sur chaque flacon et sur l'étiquette-coffret.

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

**6. PRECAUTIONS D'UTILISATION
POUR DIAGNOSTIC IN VITRO.****ATTENTION:**

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine. Les réactifs contenant du matériel d'origine humaine ont été contrôlés et trouvés négatifs pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2, anti-VHC et pour l'antigène HBsAg (selon la méthode FDA). Cependant, puisqu'il n'existe pas de méthode diagnostique capable de garantir l'absence des agents infectieux, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux et par conséquent manipulés avec précaution.

Elimination des résidus: les échantillons de serum, les étalons et les bandelettes usages doivent être traités comme des déchets infectés, et donc éliminés conformément aux dispositions de loi en vigueur.

PRECAUTIONS DE SECURITE

9. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à usage unique et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons. Se laver soigneusement les mains après avoir distribué les dispositifs dans le Chorus.
10. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes:
 - a) Le conjugué contient du phénol
 - b) Le substrat est acide.

11. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorure 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 versement accidentel de matériaux potentiellement infectieux, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorure de sodium (1%), avant de continuer le test. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorure de sodium. Tout matériel (notamment les gants) souillé par d'éventuelles éclaboussures doit être considéré comme potentiellement infectieux et éliminé selon la réglementation en vigueur. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant l'hypochlorure de sodium.

PRECAUTIONS ANALYTIQUES

Laisser les réactifs revenir à température ambiante (+18-30°C) et utiliser entre 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut contrôler qu'il est bien distribué sur le fond.
3. Contrôler la présence des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif même; il ne faut pas utiliser des dispositifs qui présentent au contrôle visuel l'absence de quelque réactif.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
5. Contrôler l'assiette de l'instrument Chorus (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
6. Ne pas modifier le code à barres sur la poignée du dispositif à la fin de permettre la correcte lecture par l'instrument.
7. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
8. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorure pendant la conservation et l'usage.
9. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
10. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
11. Dispenser le sérum en examen (50 µl) dans le puits no. 1 du dispositif (voir la figure).
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.

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. Éviter l'utilisation de l'espace de congélateur à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant utilisation. Les échantillons qui présentent une contamination microbienne peuvent fausser les résultats. Ceux qui sont fortement lipémiques, ictériques ou contaminés ne doivent pas être utilisés.

Ne pas utiliser d'échantillon de plasma humain.

8. MODE OPERATOIRE

1. Découper le sachet du côté contenant la fermeture à pression, sortir le numéro 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 6 : Précautions analytiques no. 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque change du lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer la calibration (si nécessaire) et le test selon le procédé reporté dans le Manuel 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 du Chorus). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors du range d'acceptabilité, il faut répéter la calibration. 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 DES RESULTATS

L'instrument Chorus reporte un résultat comme INDEX (rapport entre la valeur de la D.O. de l'échantillon en examen et celle de la valeur seuil (Cut-Off); l'index peut être utilisé comme mesure quantitative, proportionnelle à la quantité des IgM spécifiques.

L'échantillon est considéré comme:

Négatif : si l'Index est < 0.9
 Douteux : si l'Index est compris entre 0.9 et 1.1
 Positif : si l'Index est > 1.1

Si le résultat est douteux, répéter le test. Si le résultat est de nouveau douteux, réaliser un nouveau prélèvement de l'échantillon de sang.

11. LIMITES DE LA METHODE

Il peut se vérifier que les échantillons prélevés entre 5 jours du commencement des symptômes ne contiennent pas un niveau suffisant d'anticorps IgM pour donner un résultat positif dans le test.

Puisque les anticorps IgM maternelles ne traversent pas le placenta, les IgM spécifiques du nouveau-né résultent certainement d'une infection congénitale. En vue de la possibilité de la contamination du sang du cordon avec les IgM maternelles, il est prudent de vérifier un résultat positif sur les échantillons de sang du cordon en effectuant un deuxième examen de l'enfant.

Une réponse positive des IgM anti-Rubéole a été reportée récemment dans un petit pourcentage de patients atteints de la mononucléose infectieuse ; quelques-uns de ces patients montraient une spécificité étroite vers certaines souches du virus de la rubéole. La stimulation polyclonale des cellules mémoire-B de part de l'EBV a été considéré un mécanisme possible pour expliquer des réponses sérologiques hétérotypiques du type IgM

Les résultats doivent être toujours interprétés ensemble avec la situation clinique et les autres paramètres diagnostiques. Pendant la phase précoce ou tardive de la maladie, on peut avoir des échantillons qui donnent une réponse plusieurs fois négative proche à la valeur seuil du Cut-Off. En ce cas, on conseille de vérifier le résultat, à travers un nouvel échantillon prélevé 7-10 jours après le 1^{er} prélèvement.

12. SPECIFICITE ANALYTIQUE

La présence dans les échantillons de substances possiblement interférentes, comme le facteur rhumatoïde, la Bilirubine, les Triglycérides et échantillons hémolytiques ne cause pas aucune interférence.

Dans des échantillons de sérum provenant de femmes enceintes on ne a pas vérifié altérations du résultat du test.

13. SENSIBILITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUE

Dans l'expérimentation ont été analysés 431 échantillons avec Kit Diesse et un kit de référence commercial et les résultats positifs ou discordants ont été confirmés avec un troisième test.

Les résultats sont reportés dans la table :

Table. 1

		Reference		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

La spécificité est de 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) et la sensibilité de 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3)

14. PRECISION

Table 2. Précision dans la série

Échantillon	INDEX	Dev. Standard	CV%
Controle positif	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Table 3. Précision inter- séries

Echantillon	Media Index					Moyen	DS	CV%
	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. **BIBLIOGRAPHIE**

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830.
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.



INSTRUÇÕES PARA USO

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Português)

1. FINALIDADE

DETECÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS IgM CONTRA O VÍRUS DA RUBÉOLA EM SORO HUMANO, USANDO UM DISPOSITIVO DESCARTAVEL APLICADO AOS EQUIPAMENTOS CHORUS

2. INTRODUÇÃO

O vírus da Rubéola causa uma doença infecciosa muito comum nos homens, caracterizada para um exantema muito estendido. Geralmente o decurso da doença é muito curto e sem complicações.

Ao contrario, no caso a doença seja contraída durante a gravidez, podem ocorrer conseqüências graves para o feto, quanto o vírus é teratogénico e pode gerar graves malformações, especialmente durante o primeiro mês de gravidez.

Por isso é importante conhecer a situação imunitária da paciente antes do inicio da gravidez, para vacinar, ou no caso seja impossível, para controlar com frequência e observar a eventual soroconversão.

Existem vários métodos para detectar as imunoglobulinas específicas. O método ELISA é um destes, com a vantagem de ser totalmente automatizado. A diagnose sorológica de Rubéola pode ser realizada testando as IgM específicas, em quanto estes anticorpos, juntos com sintomas clínicos, tem um significado diagnostico muito grande.

3. PRINCIPIO DE AÇÃO

O teste baseia-se no princípio ELISA (Teste enzimático ligado à imonosorvência).

O antígeno, composto de virus da Rubéola purificado e inativado, liga-se à fase sólida. Através da incubação com soro humano diluído em um diluente bloqueador das IgG, as IgM específicas se ligam ao antígeno.

Depois das lavagens para se eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti IgM humanas conjugadas com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-se o substrato para a peroxidase.

A cor azul que aparece é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro que está sendo examinado.

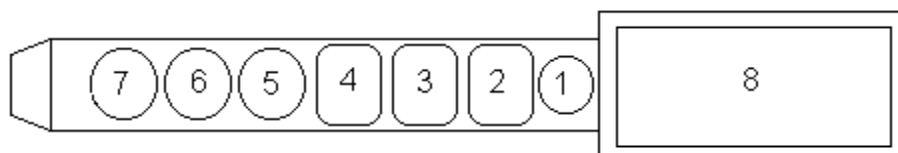
Os dispositivos mono-uso contêm todos os reagentes para se executar o teste quando aplicados ao instrumento Chorus.

4. REAGENTES DO KIT E PREPARO

Os reagentes são suficientes para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 confecções contendo 6 dispositivos cada.

Uso: **equilibrar uma confecção em temperatura ambiente**, abrir a confecção e remover os dispositivos necessários; retornar os dispositivos restantes no envelope com dessecante, esvaziar o ar e **fechar** o envelope pressionando na fechadura. Armazenar a 2/8°C.



Descrição:

Posição 8: Espaço disponível para rotular com código de barras

Posição 7: Vazio

Posição 6: CAVIDADE DE MICROPLACA sensibilizada com Antígeno purificado do Rubéola

Posição 5: CAVIDADE DE MICROPLACA não sensibilizada

Posição 4: TMB SUBSTRATO .

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

Posição 3: DILUENTE DAS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica contendo soro de anti IgG humanas, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0,02% e um indicador para detectar a presença de soro.

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: CAVIDADE VAZIA na qual o operador precisa dispensar o soro não diluído

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Conteúdo: soro humano diluído contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada.**

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Conteúdo: soro humano diluído contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada**

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Equipamento Chorus / Chorus Trio
- Água destilada ou deionizada
- Vidraria de laboratório graduada e não.
- Micropipetas de precisão e ponteiros descartáveis de 50-200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio (5%)
- Contendedores para coleta de matérias potencialmente infecciosas

5. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8°C. Em caso de temperatura de armazenamento errada, é necessário refazer a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do soro de controle (ver item 9: validação do teste).

A data de vencimento é impressa em cada componente e no rótulo caixa.

Os reagentes tem uma validade limitada depois da abertura e/ou preparação:

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

6. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Atenção:

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para 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 faixas utilizadas devem ser tratados como resíduos infecciosos e portanto, eliminados em conformidade com as disposições legais aplicáveis.

Precauções de Biossegurança

1. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear as amostras e durante o teste. Lavar as mãos depois de inserir o dispositivo no equipamento CHORUS.
2. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado contem fenol
 - b) O substrato é ácido
 Em caso de contato desses reagentes com os olhos e pele, lavar abundantemente com água.

3. Ácidos neutralizados e outros descartes líquidos precisam ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para atingir uma concentração final de 1%. Deixando agir o hipoclorito por 30 minutos geralmente é suficiente para uma desinfecção válida.
4. Derramamentos de materiais potencialmente infecciosos precisam ser removidos imediatamente com mata-borrão e a área infectada deve ser limpa, por exemplo, com hipoclorito de sódio 1%, antes de continuar o trabalho. Caso esteja presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para limpeza, incluindo luvas, devem ser descartados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

Antes do uso, permitir que os dispositivos atinjam a temperatura ambiente (18-30°C); usar entre 60 minutos.

1. Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.

2. Adicionando a amostra ao poço verifique que está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Controlar a presença dos reagentes nas cavidades do dispositivo e a integridade do dispositivo mesmo; não usar dispositivos que, ao controle visual, faltam alguns reagentes.
4. Os dispositivos são para uso exclusivo no equipamento Chorus; seguir rigorosamente as Instruções para Uso e o Manual do equipamento.
5. Controlar que o equipamento Chorus seja programado corretamente (ver Manual do Usuário Chorus).
6. Não alterar o código de barras na empunhadura do dispositivo, permitindo uma correta leitura pelo equipamento.
7. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no equipamento.
8. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
9. Amostras fortemente hemolizadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados
10. Antes de inserir o dispositivo no equipamento Chorus, verificar que a cavidade de reação não contenha corpos estranhos.
11. Pipetar a amostra a ser testada (50 µl) na cavidade 1 do dispositivo (ver figura).
12. Não usar o dispositivo depois do vencimento.

7. TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

A amostra é soro, obtido de sangue coletado das veias e manuseado segundo as precauções do laboratório. O soro fresco pode ser conservado a 2/8°C por 4 dias; para períodos de tempo maiores conservá-lo a -20°C. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras. A amostra pode ser descongelada no máximo 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 usar amostras fortemente lipêmicas, ictericas, hemolizadas ou inquinadas.

Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir a confecção (do lado da fechadura por pressão), prender o número de dispositivos necessários para os testes e retornar os dispositivos restantes no envelope com dessecante, esvaziar do ar e fechar o envelope premendo na fechadura.
2. Controlar visualmente as condições do dispositivo em acordo com as indicações do parágrafo 6, Precauções Analíticas itens 1 e 8.
3. Dispensar na cavidade 1 de cada dispositivo 50 µl de amostra a ser testada, não diluída; por cada troca de lote, usar um dispositivo para o calibrador..
4. Inserir o dispositivo no equipamento Chorus. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Uso do equipamento.

9. ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO

Usar o Soro de Controle para verificar a exatidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Uso do equipamento. No caso o equipamento apontar o Soro de Controle fora do range de aceitação, precisa calibrar o equipamento uma outra vez. Os resultados antecedentes serão corrigidos automaticamente.

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O equipamento Chorus fornece resultados em INDEX (relação entre o valor de D.O. da amostra em teste e aquilo do Cut-Off), que pode ser usado como medida quantitativa, sendo proporcional à concentração das IgM específicas.

A amostra será:

NEGATIVO quando o índice ≤ 0.9

DUVIDOSO: índice entre 0.9 e 1.1

POSITIVO quando o índice ≥ 1.1

No caso de resultado duvidoso, repetir o teste. Se o resultado continua duvidoso, coletar uma outra amostra depois de 1-2 semanas.

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Amostras coletadas antes de 5 dias depois o aparecer dos sintomas, poderiam conter níveis de IgM insuficientes para resultar positivas ao teste.

Dado que os anticorpos IgM não atravessam a placenta, a presença das IgM no sangue do recém nascido devem ser consideradas como resultado de uma infecção congênita. Posto que existe a possibilidade de contaminação do sangue do cordão umbilical com as IgM da mãe, se aconselha confirmar um resultado positivo de IgM no sangue do cordão, por meio de uma segunda coleta de sangue do recém nascido.

Recentemente foi referida uma resposta de anticorpos de tipo IgM anti-Rubéola numa pequena percentagem de pacientes com mononucleose infecciosa, algum dos quais apresentavam uma especificidade por algumas cepas do vírus da Rubéola. Considera-se que o estímulo policlonal do EBV para as células B-memória podem ser responsáveis, em qualquer caso, de respostas de anticorpos IgM heterotípicos.

Os resultados precisam ser interpretados juntos com outros obtidos pela avaliação clínica e por outras investigações diagnósticas.

Soros de pacientes que se encontram numa fase precoce ou avançada da doença podem dar um resultado repetidamente negativo próximo ao valor limite do Cut Off. Nesses casos, recomenda-se verificar o resultado, dosando uma amostra nova extraída depois de um intervalo de 7 a 10 dias em relação à primeira.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

A presença nas amostras de substâncias interferentes, como: Fator Reumatóide, Bilirrubina Triglicérides e amostras hemolíticas não influenciam o resultado.

Numa amostragem de soros provenientes de senhoras grávidas não se verificaram alterações no resultado do ensaio.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Na experimentação, foram analisadas 431 amostras com o Kit Diesse e um kit de referência comercial e os resultados positivos ou incongruentes foram confirmados por um terceiro ensaio.

Os resultados são reportados na tabela seguinte:

Tabela 1

		Referência		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

O produto mostra 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) de especificidade e 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3) de sensibilidade.

14. PRECISÃO

Tabela 2. Precisão no teste

Amostra	INDEX	Desvio Padrão	CV%
Soro positivo de controlo	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabela 3. Precisão entre testes

Amostra	Média Index					Média	D.P.	CV%
	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Teste 4	Teste 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detetion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830.
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.

Diesse Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena) – Italy
Tel. 0577-587111



INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Romana)

1. UTILIZARE RECOMANDATA

DETERMINAREA CALITATIVA DE ANTICORPI CLASA IgM IMPOTRIVA RUBELLA VIRUS IN SER UMAN UTILIZAND UN DISPOZITIV DE UNICA FOLOSINTA APLICAT PE INSTRUMENTELE CHORUS.

2. INTRODUCERE

Rubella virus cauzeaza o infectie foarte comuna la om urmata de o eruptie tipica difuza. Cursul bolii este in general scurt si fara complicatii. Dar este nociv fetusului daca este contractat in timpul sarcinii, deoarece virusul este teratogenic si poate cauza malformatii serioase in special in prima luna de sarcina. Prin urmare este esential sa se determine starea de imunitate a pacientului inainte de inceperea sarcinii, daca este posibil, pentru a efectua o vaccinare sau, daca aceasta este imposibila, pentru monitorizarea sarcinii in vederea observarii aparitiei seroconversiei. Anumite metode sunt folosite pentru testarea imunoglobulinelor specifice. (1). ELISA este una din acestea, si are avantajul sa se faca automat. Diagnosticarea serologica cu Rubella poate fi efectuata prin testarea IgM specific, deoarece acesti anticorpi, impreuna cu simptomele clinice, au o relevanta considerabila in diagnosticare.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul este bazat pe tehnica ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Antigenul, compus din Virus Rubella purificat si inactivat, este legat de faza solida. Prin incubare cu ser uman diluat intr-un diluant care blocheaza IgG, IgM specific este legat de antigen.

Dupa spalare pentru eliminarea proteinelor care nu au reactionat, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi monoclonali umani IgM conjugate cu peroxidaza de hrean.

Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza.

Culoarea albastra care se dezvoltă este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

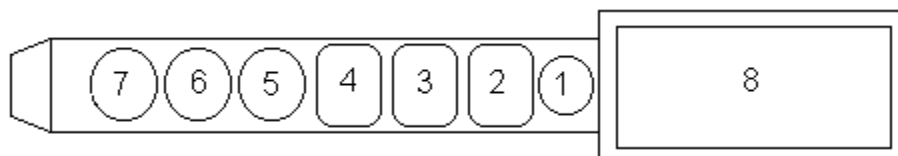
Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului la aplicarea pe instrumentele Chorus.

4. COMPOZITIA TRUSEI SI PREPARAREA REACTIVILOR

Trusa este suficienta pentru 36 de teste.

DD DISPOZITIV 6 pachete fiecare continand 6 dispozitive

Utilizare: echilibrati un pachet la temperatura camerei, deschideti pachetul si indepartati dispozitivele necesare, inlocuiti-le pe celelalte cu silicagel, eliminati aerul si sigiliati prin presarea inchiderii. Pastrati la 2-8°C.



Descriere:

Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea etichetei codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEU MICROPLACI captusit cu Antigen purificat Virus Rubella Virus

Pozitia 5: GODEU MICROPLACI necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRATE

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

Pozitia 3: DILUANT PENTRU PROBE

Continut: Solutie proteica cu continut de ser anti human IgG, fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator care sa arate prezenta de ser.

Pozitia 2: CONJUGAT

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

Pozitia 1: GODEU GOL in care operatorul trebuie sa pipetazeze serul nediluat.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Continut: Ser uman diluat, la o concentratie cunoscuta de anticorpi, cu continut de Proclin and Gentamicina, **lichid gata preparat pentru utilizare.**

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, la o concentratie cunoscuta de anticorpi, cu continut de Proclin and Gentamicina, **lichid gata preparat pentru 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
- Instrumentele Chorus / Chorus Trio
- Apa distilata sau deionizata
- Stilarie de laborator normala: cilindrii, tuburi test- etc.
- Micropipete pentru pipetare adecvata de solutie 10, 100, 1000 µl
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de hipoclorit de sodiu (5%)
- Containere pentru colectarea potentialelor materiale infectioase

5. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie sa fie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura incorecta calibrarea trebuie repetata si circuitul validat utilizand ser control (vezi punctul 9, Validarea testului).

Data de expirare este listata pe fiecare component si pe eticheta trusei.

Reactivii au o stabilitate limitata dupa deschidere si/sau preparare:

DISPOZITIV	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATOR	8 saptamani la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 saptamani la 2/8°C

6. PRECAUTII

DOAR PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Atentionare:

Aceasta trusa contine materiale de origine umana care au fost testate si au raspuns negativ la metodele FDA aprobate in ceea ce priveste prezenta anticorpilor HbsAg si a anticorpilor anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-HCV. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi o garantie completa in privinta absentei agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manipulate ca fiind potential infectioase. Toate precautiile adoptate normal in practicile de laborator trebuie respectate in momentul manipularii materialelor de origine umana. Indepartare deseurilor: stripurile utilizate care contin materiale de origine umana trebuie considerate materiale infectioase si aruncate doar prin respectarea reglementarilor din acest domeniu.

Informatii privind sanatatea si siguranta

1. Nu pipetati cu gura. Purtati manusi de unica folosinta si protectie la ochi cand manipulati speciemenele. Spalati mainile bine dupa ce asezati dispozitivele in instrumentul CHORUS.
2. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante nocive sau iritante:
 - a) Conjugatul contine fenol
 - b) Substratul este acid

Daca vreunul din reactivi intra in contact cu pielea sau ochii, spalati zona cu multa apa.

3. Acizii neutralizati si alte lichide reziduale trebuie decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru obtinerea unei concentratii finale de cel putin 1.0%. O expunere de 30 de minute la 1% hipoclorit de sodiu poate fi suficient pentru asigurarea unei decontaminari efective.
4. Scurgeri de materiale potential infectioase trebuie indepartate imediat cu servetele de hartie absorbanta iar zona contaminata curatata cu, de ex. 1.0% hipoclorit de sodiu, inainte de inceperea lucrului. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat pe scurgerile care contin acid decat daca zona scurgerii nu a fost mai intai uscata prin stergere. Materialele folosite pentru curatarea scurgerilor, inclusiv manusile, trebuie aruncate deoarece sunt deseuri potential infectioase. Nu autoclavati materialele care contin hipoclorit de sodiu.

Precautii analitice

Aduceti dispozitivele care vor fi folosite la temperatura camerei (18-30°C) inainte de utilizare; utilizati in timp de 60 min.

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. In timp de adaugati proba in godeu verificati daca este perfect distribuit pe fund.
3. Verificati prezenta reactivilor din dispozitiv si daca dispozitivul nu este deteriorat, nu utilizati dispozitive carora le lipsesc reactivii.
4. Dispozitivele se vor folosi cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie urmarite cu atentie si manualul de operare a instrumentului trebuie consultat.
5. Verificati daca instrumentul Chorus este setat in mod corect. (vezi Manualul de Operare Chorus).
6. Nu schimbati codul de bare de pe manerul dispozitivului pentru a permite citirea corecta a instrumentului.
7. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual in instrument.
8. Nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit in timpul pastrarii si utilizarii.
9. Utilizarea probelor puternic hemolizate, sau a probelor cu contaminarii microbiene, pot toate constitui surse de eroare.
10. Inainte de inserarea dispozitivelor in instrument, verificati daca godeul de reactie nu contine corpii straini.
11. Pipetati serul test (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
12. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.

7. TIPUL SI PASTRAREA PROBEI

Proba este compusa din ser colectat in maniera normala din vene si manipulate cu toate precautiile date de practicile de laborator. Serul proaspat poate fi pastrat timp de 4 zile la 2/8°C, sau congelat pentru perioade mai lungi la -20°C, si poate fi congelat/decongelat de maximum 3 ori. Evitati folosirea frigiderelor cu auto-dezghetare pentru depozitarea probelor. Probele decongelate trebuie agitate cu atentie inainte de utilizare. Calitatea probelor poate fi serios afectata de contaminare microbiana care duce la rezultate eronate.

Probele puternic lipemice, icterice, hemolizate sau contaminate trebuie evitate. **Testul nu poate fi aplicat plasmei.**

8. PROCEDURA

1. Deschideti pachetul (pe partea care contine presiune de inchidere), indepartati numarul dispozitivelor solicitate si sigilati restul pungii dupa eliminarea aerului.
2. Verificati stadiul dispozitivelor in functie de indicatiile prezentate in avertizarile analitice, punctele 1 si 8.
3. Pipetati 50 µl de ser test nediluat in godeul no. 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare a lotului utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Puneti dispozitivele in instrumente. Efectuati calibrarea (daca este necesar) si testul conform prezentarii in Manualul de Operare Chorus

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru verificarea validitatii rezultatelor obtinute. Trebuie folosit conform Manualului de Operare. Daca instrumentul semnalizeaza ca serul de control are o valoare in afara limitei acceptabile, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprima rezultatele in INDEX (raport intre valoarea OD a testului proba si Cut-Off) ce pot fi utilizate ca o masura cantitativa, deoarece este proportional cu cantitatea IgM –ului prezent.

Serul test poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

NEGATIV: cand rezultatul este < 0.9

INCERT: cand rezultatul este intre 0.9 si 1.1

POZITIV: cand raportul este > 1.1

In cazul rezultatelor incerte, repetati testul. Daca testul ramane incert, repetati dupa cel putin 15 zile.

11. LIMITARILE PROCEDURII

Specimenele colectata mai devreme de 5 zile dupa instalarea simptomelor pot sa nu contina suficient anticorp IgM pentru a iesi pozitive la test.

Deoarece anticoprul maternal IgM nu intra in placenta, anticorpul IgM specific virusului la nou nascuti poate rezulta intr-o infectie congenitala. Deoarece exista posibilitatea contaminarii sangelui cordonului ombilical cu IgM maternal, este prudent sa se confirme rezultatele anticorpilor pozitivi virali din probele sangelui cordonului ombilical prin testarea specimenelor de la sugari. Reactiile anticorpului Rubella IgM au fost raportate in mica proportie la pacientii cu infectii cu mononucleoza; unele din acestea aratand o specificitate stricta pentru anumite tulpini ale virusului Rubella. Stimularea policlonala a celulelor de memorie B prin EBV a fost considerata in anumite cazuri ca un posibil mecanism pentru reactii ale anticorpului heterotipic IgM

Rezultatele trebuie intotdeauna interpretate impreuna cu imaginea clinica si informatiile altor investigatii.

Serurile de la pacienti provenite din stadii incipente sau avansate ale bolii pot da rezultate negative in mod repetat in jurul valorii Cut-off. In astfel de cazuri, o confirmare a rezultatelor este recomandata, prin testarea unei noi probe de la acelasi pacient la un interval de 7-10 zile de la prima proba.

12. SPECIFICITATE ANALITICA

Prezenta in probe a substantelor potential interferente cum ar fi factorul reumatoid, bilirubina, trigliceridele si probele hemolitice nu influenteaza rezultatele. NU s-a verificat nici o infuenta a rezultatelor in testul serurilor proba provenite de la femeile insarcinate.

13. SENSIBILITATE SI SPECIFICITATE

S-au testat 431 probe la experimentare atat cu trusa Diesse kit cat si cu alta trusa comerciala de referinta.

Probele care au dat rezultate pozitive sau au fost in dezacord, au fost confirmate cu alt test.

Rezultatele sunt sumarizate in urmatorul tabel.

Tabel 1

		Referinta		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
	Total	76	355	431

Trusa arata specificitate de 98.9 % (CI_{95%} : 97.1 – 99.6) si sensibilitate de 97.4 % (CI_{95%} : 90.9 – 99.3).

14. PRECIZIE

Tabel 2. Precizie in timpul circuitului

Proba	INDEX	SD	CV%
Positive control	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabel 3. Precizie intre circuite

Proba	Mean Index					Mean	SD	CV%
	Circuit 1	Circuit 2	Circuit 3	Circuit 4	Circuit 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Ser 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Ser2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. INDEXUL SIMBOLURILOR FOLOSITE

	Data fabricatiei
	A se folosi pana la
	A nu se refolosi
	Atentie, consultati documentele insotitoare
	Productator
	Continunt sufficient pt <n> teste
	Limita da temperatura
	Pentru utilizare consultati instructiunile
	Risk biologic
	Numar de catalog
	Dizpositiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Lot

16. REFERINTE

- 1.G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- 2.S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
- 3.R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
- 4.B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
- 5.T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830
- 6.P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena) Italy
Tel. 0577-587111

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