

ENZY-WELL



DIESSE

SARS-CoV-2 IgM

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

REF 91401 (96 tests)





NÁVOD K POUŽITÍ

ENZY-WELL SARS-CoV-2 IgM

Pro kvalitativní stanovení protilátek třídy IgM proti viru SARS-CoV-2

Určeno pouze k diagnostice in vitro

1. POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro kvalitativní stanovení protilátek třídy IgM proti viru SARS-CoV-2 v lidském séru.

2. ÚVOD

Koronaviry jsou jednovláknové RNA viry s pozitivní polaritou patřící do čeledi Coronaviridae rozdělené do čtyř rodů: alfa-koronavirus, beta-koronavirus, delta-koronavirus a gama-koronavirus. Koronaviry se běžně vyskytují v mnoha živočišných druzích. Zvířecí koronaviry občas mohou geneticky mutovat prostřednictvím chyb během replikace genomu, což může jejich tropismus dále rozšířit na člověka. Bylo identifikováno celkem šest druhů lidského koronaviru odpovědných za onemocnění dýchacích cest u člověka, v nichž jsou zahrnuty dva alfa-koronaviry a čtyři beta-koronaviry (dva nejnovější jsou SARS-CoV a MERS-CoV). Tyto koronaviry obvykle způsobují asymptomatickou infekci nebo závažná akutní onemocnění dýchacích cest, včetně horečky, kašle a dušnosti. Byly hlášeny i další příznaky jako gastroenteritida a neurologická onemocnění různé závažnosti. Počínaje prosincem 2019 Světová zdravotnická organizace nahlásila sedmý lidský beta-koronavirus (2019-nCoV), který způsobil epidemii zápalu plic. Tento nový virus je spojen s ohniskem horečnatého onemocnění dýchacích cest ve Wuhanu, v provincii Hubei v Číně. U některých pacientů s virem 2019-nCoV se vyvinul těžký zápal plic, plicní edém, ARDS nebo multiorgánové selhání a zemřeli. V současné době je k dispozici málo informací týkajících se epidemiologie a klinických příznaků zápalu plic způsobených virem 2019-nCoV. Sledování titru protilátek může sloužit jako indikace stavu infekce: během prvních dnů se objevují IgA a IgM; s postupujícím onemocněním převládají IgG.

3. PRINCIP METODY

Test je založen na principu ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antigen se váže na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem. Po vymytí za účelem odstranění proteinů, které nezařagovaly, se provádí inkubace s konjugátem složeným z monoklonálních protilátek lidských anti-IgM konjugovaných s křenovou peroxidázou. Dojde k odstranění nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát. Intenzita modrého zbarvení, které vznikne, je přímo úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných ve zkoumaném séru.

Po zastavení enzymatické reakce po přidání roztoku kyseliny sírové se zbarvení změní na žluté. Zbarvení úměrné množství specifických protilátek přítomných v séru lze odečítat čtečkou mikrotitračních destiček.

4. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití testů schválených pro stanovení přítomnosti HBsAg a protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Jelikož žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agenty nejsou přítomny, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení se všemi reagensy a vzorky je nutné dodržovat bezpečnostní opatření běžně přijímaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s vzorky séra a použitými reagensy je třeba zacházet jako s infekčním odpadem a likvidovat je v souladu s platnými právními předpisy.

Upozornění týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky a během testu mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po ukončení testu si důkladně umyjte ruce.
4. Zařízení, která nejsou jednorázová, je třeba po použití sterilizovat, nejlépe v autoklávu po dobu 1 hodiny při 121°C; veškerá jednorázová zařízení musí být zlikvidována v souladu s platnými předpisy.
5. 2M kyselina chlorovodíková použitá k mytí laboratorního skla je korozivní; tyto látky je třeba používat opatrně. V případě styku s kůží nebo očima omyjte velkým množstvím vody.
6. 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.
7. Rozlité potenciálně infekční materiály je třeba okamžitě odstranit savým papírem 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 je nutné nejprve otřením vysušit.

Všechny materiály použité k čištění případně potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad.

Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

1. Optická hustota cut-off, kontrol a vzorků se může u různých destiček mírně lišit. Proto, pokud jsou použity ve stejné testovací relaci stripů různých destiček, i když ze stejné šarže, je nutné zopakovat stanovení cut-off.
2. Před použitím ustáňte všechny reagensy na pokojovou teplotu (18-30°C). Reagencie ihned po použití uložte s doporučenou teplotou skladování.
3. Otevřete balení obsahující stripů nejméně po půlhodině při pokojové teplotě.
4. Nepoužívejte reagensy po datu expirace. Vyvarujte se mikrobiálního znečištění reagensů, neboť to snižuje dobu použitelnosti produktu a může vést k chybným výsledkům.
5. Neupravujte postup a nepoužívejte reagensy jiných výrobců nebo reagensy z jiných šarží, pokud není u dané

reagencie uvedeno, že je zaměnitelná mezi různými šaržemi. Nezkracujte předepsané doby inkubace.

6. Veškeré laboratorní sklo, které má být použito při testu, musí být důkladně umyto 2M kyselinou chlorovodíkovou a poté vypláchnuto destilovanou nebo deionizovanou vodou.
7. Během skladování a inkubačních fází nevystavujte reagencie působení silného světla či výparům chlomanu.
8. Jednotlivé jamky nesmí během provádění testu vyschnout.
9. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.
10. Vyvarujte se křížové kontaminace reagentů. Je důležité, aby pro použití se substrátem a konjugátem byly vyhrazeny pipety k výlučnému použití.
11. Vyvarujte se kontaminace okraje jamky konjugátem.
12. Nefoukejte na mikrotitrační destičky.
13. Při enzymové imunoanalýze může příležitostně docházet k okrajovému efektu („edge effect“), který je nutné minimalizovat zvýšením vlhkosti během inkubačních fází. Destičky musí být zakryty víčkem a inkubovány při teplotě uvedené v postupu, buď ve vodní lázni se stojánkem na destičky nebo v inkubátoru. Alternativně je možné destičky inkubovat ve vhodném analyzátoru. Další podrobnosti naleznete v návodu k obsluze konkrétního nástroje. Není možné použít CO₂ inkubátory
14. Před odečtením destičky se ujistěte, zda je dno destičky čisté a suché a zda na povrchu tekutiny nejsou žádné vzduchové bubliny.
15. Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků představujících mikrobiální znečištění.
16. Vyvarujte se kontaminace jamek práškem z jednorázových rukavic.
17. Použití soupravy s automatickými nástroji musí být validováno uživatelem.
18. Přečtěte si uživatelskou příručku týkající se všech použitých nástrojů, zejména s odkazem na následující body:
 - instalace a speciální požadavky
 - provozní princip, pokyny, bezpečnostní opatření, rizika
 - specifikace výrobce a výkon nástroje
 - údržba a technický servis.

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagencie vystačí na 96 stanovení

Před použitím ustalte reagencie na pokojovou teplotu.

MT PLATE | MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA (12x8)

Obsah: 1 destička s 96 jamkami potaženými inaktivovaným nativním antigenem.

CONJ | KONJUGÁT 1x16 ml

Obsah: Monoklonální protilátky lidských anti-IgM označené peroxidázou, ve fosfátovém pufru s 0,05% fenolem a 0,02% Bronidoxem. Tekutina, připravena k použití.

CONTROL - | NEGATIVNÍ KONTROLA 1x0.8 ml

Obsah: Bílkovinný roztok neobsahující specifické protilátky schopné vázat antigen přítomný na mikrotitrační destičce a konzervantu. Tekutina, připravena k použití.

CONTROL + | POZITIVNÍ KONTROLA 1x0.8ml

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující specifické protilátky schopné vázat antigen přítomný na mikrotitrační destičce a konzervantu. Tekutina, připravena k použití.

CONTROL CUT-OFF | KONTROLA CUT-OFF 1x0.8 ml

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující specifické protilátky schopné vázat antigen přítomný na mikrotitrační destičce a konzervantu. Tekutina, připravena k použití.

SAMP DIL 2 | ŘEDIDLO 2 1x100ml

(PF93611)

ZAMĚNITELNÉ MEZI ŠARŽEMI

Obsah: Bílkovinný roztok ve fosfátovém pufru s 0,09 % azidem sodným a barvivem (methyloranž).

Použití: K použití pro ředění vzorků. Tekutina, připravena k použití.

SAMPLE SORBENT 4 | VZOREK SORBENTU 4 1x7ml

(PF30401)

ZAMĚNITELNÝ MEZI ŠARŽEMI

Obsah: Bílkovinný roztok ve fosfátovém pufru s 0,09 % azidem sodným a barvivem (methyloranž) a lidskými protilátkami anti-IgG.

Použití: K použití pro ředění vzorků (v destičce). Tekutina, připravena k použití.

WASH BUF 10x | PROMÝVACÍ PUFR 10x 1x100 ml

(PF93603)

ZAMĚNITELNÝ MEZI ŠARŽEMI

Obsah: Pufrovaný fyziologický roztok (PBS) koncentrovaný desetkrát obsahující 0,5% Brij.

Příprava: Rozřeďte požadovaný objem 1:10 destilovanou nebo deionizovanou vodou, abyste získali promývací pufr připravený k použití. Pokud jsou přítomny krystaly, před ředěním je rozpustěte při 37°C.

SUBS TMB | SUBSTRÁT 1x12 ml

(PF93619)

ZAMĚNITELNÝ MEZI ŠARŽEMI

Obsah: Tetramethylbenzidin 0,26 mg/ml a H₂O₂ 0,01% stabilizované v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3,8). Tekutina, připravena k použití.

H₂SO₄ 0,3 M | BLOKAČNÍ ROZTOK 1x16 ml

(PF93602)

ZAMĚNITELNÝ MEZI ŠARŽEMI

Obsah: Roztok H₂SO₄ 0,3 mol/l. Tekutina, připravena k použití.

OCHRANNÁ FÓLIE (2).

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ.

- Čtečka mikrotitračních destiček (vlnová délka 450 nebo 450/620 nm, s linearitou do OD ≥ 2.000)
- Promývačka mikrotitračních destiček (není nezbytná) schopná dávkovat objemy od 225 do 375 μl
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný odběr 10, 100, 1000 μl roztoku
- Jednorázové rukavice
- Stopky

- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infekčního materiálu
- Savý papír

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2–8°C.

Datum expirace je vytištěno na každém komponentu a na největším štítku balení.

Reagencie mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA KONJUGÁT	4 týdny při teplotě 2–8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2–8°C
NEGATIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2–8°C
KONTROLA CUT-OFF	8 týdnů při teplotě 2–8°C
ŘEDIDLO 2	až do expirace při teplotě 2–8°C
VZOREK SORBENTU 4	až do expirace při teplotě 2–8°C
SUBSTRÁT	až do expirace při teplotě 2–8°C; 1 týden při teplotě 15–30°C; skladujte v temnu
PROMÝVACÍ PUFŘ	2 týdny při teplotě 2–8°C; 5 dní při teplotě 15–30°C
BLOKAČNÍ ROZTOK	až do expirace při teplotě 2–8°C

7. TYP VZORKŮ A JEJICH SKLADOVÁNÍ

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

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dní při teplotě 2–8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu -20°C.

Vyvarujte se opakovaného rozmrazování.

Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace teplem může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

PŘÍPRAVA

Před zahájením testu ustalte všechny reagencie na pokojovou teplotu (18–30°C).

- Připravte nezbytné stripy.
- Připravte promývací pufr rozředěním Wash Buffer 10x (100 ml + 900 ml H₂O).
- Rozředte vzorky 1:51 nadávkováním 10 µl séra do 0,500 ml ředidla.

PROVEDENÍ TESTU

1. Distribuce vzorků:
Nadávkujte 100 µl kontroly (pozitivní, negativní nebo cut-off).

Nadávkujte 50 µl vzorku sorbentu 4 + 50 µl rozředěného vzorku do každé jamky (vhodnější je provést analýzu duplicitních vzorků).

Minimální nezbytný požadavek je 1 negativní kontrola, 1 pozitivní kontrola a 2 kontroly cut-off. (Ponechtejte jednu jamku stripu pro slepý vzorek).

2. Inkubace:
Inkubujte destičku zakrytou samolepicí fólií při pokojové teplotě po dobu 60 ± 5 minut.
3. Promytí:
Odstraňte samolepicí fólii, odsajte obsah všech jamek a čtyřikrát promyjte naplněním každé jamky 300 µl promývacího roztoku. Před každým promytím vyčkejte 30 sekund.
4. Distribuce konjugátu:
100 µl konjugátu do každé jamky destičky.
5. Inkubace konjugátu:
Inkubujte destičku zakrytou samolepicí fólií při pokojové teplotě po dobu 60 ± 5 minut.
6. Promytí:
Odstraňte samolepicí fólii, odsajte obsah všech jamek a čtyřikrát promyjte naplněním každé jamky 300 µl promývacího roztoku. Před každým promytím vyčkejte 30 sekund.
7. Distribuce substrátu:
Nadávkujte 100 µl substrátu do každé jamky destičky.
8. Inkubace substrátu:
Inkubujte destičku při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
9. Zastavení reakce:
Nadávkujte 100 µl blokačního roztoku ve stejném pořadí jako přidání v bodě 4.
10. Odečet:
Odečtěte optické hustoty při 450 nm nebo 450/620 nm do 30 min. Odečtěte je znovu při 405 nm, pokud se vyskytnou optické hustoty vyšší než 2.000.

9. TESTOVACÍ SCHÉMA PRO SARS-CoV-2 IgM

- | | |
|--------|--|
| KROK 1 | Umístěte 100 µl kontrol (pozitivní, negativní a cut-off) a 50 µl vzorku sorbentu 4 + 50 µl rozředěného vzorku do jamek stripů. Protřeptejte. |
| - | Inkubujte po dobu 60 ± 5 minut při pokojové teplotě |
| - | Promyjte čtyřikrát (300 µl) |
| KROK 2 | Vložte 100 µl konjugátu do každé jamky |
| - | Inkubujte po dobu 60 ± 5 minut při pokojové teplotě |
| - | Promyjte čtyřikrát (300 µl) |
| KROK 3 | Vložte 100 µl substrátu do každé jamky |
| - | Inkubujte po dobu 15 minut při pokojové teplotě |
| KROK 4 | Přidejte 100 µl zastavovacího roztoku |
| - | Odečtěte optickou hustotu při 450 nm nebo při 450/620 nm do 30 min. |

10. VALIDACE TESTU

Slepý vzorek: < 0,150

Negativní kontrola: Poměr mezi optickou hustotou negativní kontroly a optickou hustotou cut-off musí být < 0,6.

Pozitivní kontrola: pozitivní kontrola musí mít optickou hustotu nejméně 1,5 krát vyšší než je optická hustota séra cut-off.

Kontrola cut-off: optická hustota cut-off musí být > 0,2.

Pokud je jeden z výsledků kontrolních sér mimo rozsah přijatelnosti, zopakujte test. Pokud problém bude přetrvávat, zkontaktujte oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

11. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Vypočítejte poměr mezi hodnotou optické hustoty vzorku a hodnotou cut-off (index).

Vzorek bude hodnocen jako:

POZITIVNÍ: pokud je index > 1,1

SPORNÝ: pro všechny hodnoty 0,9-1,1

NEGATIVNÍ: pokud je index < 0,9

12. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta.

Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samostatně. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a/nebo jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

13. ANALYTICKÁ SPECIFITA

Byly testovány 4 vzorky (2 negativní a 2 pozitivní), ke kterým byly přidány následující interferenční látky:

Revmatoidní faktor (44 – 220 IU/ml)

Bilirubin (4,5– 45 mg/dl)

Triglyceridy (10– 250 mg/dl)

Hemoglobin (5– 30 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru může ovlivnit výsledek testu.

14. KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Bylo testováno 77 vzorků pozitivních na:

Mycoplasma p. (5), Cytomegalovirus (4), RSV (2), Chřipku B (1), Chřipku A (5), Adenovirus (3), Revmatoidní faktor (4), ANA (22), SARS-CoV (18) a Virus Epstein-Barrové (13).

Nebly hlášeny žádné významné zkřížené reakce (s výjimkou Mycoplasma p. (1), Revmatoidního faktoru (1), ANA (4), SARS-CoV (5) a Viru Epstein-Barrové (5)).

15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 397 vzorků pomocí soupravy Diesse a pomocí imunofluorescenčního testu.

Výsledky této studie shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	57	10	67
	-	8	322	330
	Celkem	65	332	397

Pozitivní shoda v procentech (~ Diagnostická citlivost): 87,7% CI95%: 77,5-93,6.

Negativní shoda v procentech (~Diagnostická specifita): 97,0% CI95%: 94,5-98,3.

Analýza výsledků 29 vzorků se známým datem nástupu symptomů ukázala, že citlivost testů ELISA se zvyšuje 10 dnů po nástupu symptomů. Po 12 dnech se dosahuje 87,5% citlivosti.

Dny po nástupu symptomů	Citlivost
< 10	58,3 %
> 10	70,6 %
> 12	87,5 %

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními		Mezi šaržemi	
	Průměr Index	Variační koeficient (CV) %	Průměr Index	Variační koeficient (CV) %	Průměr Index	Variační koeficient (CV) %
1	1,6	8,8	1,5	13,3	0,2	25,0*
2	0,5	10,0	2,1	11,9	2,0	7,5
3	1,9	2,6	0,8	11,3	0,5	8,0
4	0,6	10,0	0,7	10,0	1,8	10,6

*Artefakt daný známým efektem variačního koeficientu, který se stává extrémně citlivým na variace (i velmi malé), když se průměrná hodnota blíží nule.

17. PROBLÉMY PŘI POUŽÍVÁNÍ

PROBLÉM	MOŽNÉ ZDROJE CHYBY	OPATŘENÍ, KTERÁ JE TŘEBA PŘIJMOUT
Měření neplatné (všechny negativní)	Jedna nebo více reagensů nebyly přidány nebo byly přidány v nesprávném pořadí	Znovu zkontrolujte postup. Zkontrolujte, zda nějaká reagensie nebyla přidána. Proveďte test znovu.
	Destička není reaktivní	Zkontrolujte kód na balení destičky (viz návod k použití).
		Zkontrolujte přítomnost vlhkosti na nepoužité destičce. (Silikagel musí být světle žlutý). Proveďte test znovu.
Měření neplatné (všechny pozitivní)	Znečištění substrátu	Odeberte nový alikvotní podíl substrátu.
	Nevhodné promytí	Zkontrolujte správnou funkci promývačky
Nízká přesnost	Nevhodné odsávání jamek	Zkontrolujte správnou funkci promývačky
	Chyba při pipetování	Zkontrolujte fungování pipety

	Přidávání reagensů příliš pomalé	Vyvarujte se vyschnutí destičky po umytí. Okamžitě přidejte činidla
	Přítomnost vzduchových bublin	Vyvarujte se vytváření vzduchových bublin při pipetování
	Optická trasa není čistá	Zkontrolujte znečištění světelného zdroje. Očistěte dno destičky papírovým kapesníkem.
Nedostatečný vývoj zabarvení	Nesprávná inkubační doba nebo teplota	Zkontrolujte sledování teploty a doby inkubace
	Substrát přidán v nedostatečném objemu	Zkontrolujte fungování pipety.

18. BIBLIOGRAFIE

1. Xintian et al. "Evolution of the novel coronavirus from ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission" Science China Life sciences; January 2020
2. Chen et al "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". The Lancet, Vol 395 (507-513) February 15, 2020
3. Huang et al "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". The Lancet, Vol 395 (497-506) February 15, 2020
4. Yuxian et al. "Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus" Journal of clinical microbiology-vol 43 n8 (p.3718-37296); august 2005
5. Woo at al. "Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia" Journal of clinical microbiology - vol 42 n5 (2306-2309); May 2004



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





INSTRUCIUNI DE UTILIZARE

ENZY-WELL SARS-CoV-2 IgM

**Pentru determinarea calitativă a anticorpilor IgM
anti-virus SARS-CoV-2.**

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Test imuno enzimatic pentru determinarea calitativă a anticorpilor anti-virus SARS-CoV-2 clasa IgM din serul uman.

2. INTRODUCERE

Coronavirusurile sunt virusuri ARN pozitive monocatenare aparținând familiei Coronaviridae, care sunt împărțite în patru genuri: Alpha, Beta, Delta și Gammacoronavirus. COV-urile sunt frecvent întâlnite la multe specii de animale. Ocazional, COV-urile animale pot dobândi mutații genetice prin erori în timpul replicării genomului, ceea ce le poate extinde și mai mult tropismul la oameni. Un total de șase tipuri de CoV umane au fost identificate ca fiind responsabile pentru tulburările respiratorii umane, care includ două alfa CoV și patru beta CoV (cele mai recente două fiind SARS-CoV și MERS-CoV).

În general, acest virus COV, provoacă infecții asimptomatice sau boli respiratorii acute severe, inclusiv febră, tuse și lipsa respirației. Cu toate acestea, au fost raportate și alte simptome, cum ar fi gastroenterita și boli neurologice de severitate variată. Din decembrie 2019, Organizația Mondială a Sănătății a raportat al șaptelea beta-coronavirus uman (2019-nCoV) care a provocat o epidemie de pneumonie. Acest nou virus este legat de un focar de boli respiratorii febrile în orașul Wuhan, provincia Hubei, China. Unii pacienți cu 2019-nCoV au dezvoltat pneumonie severă, edem pulmonar, ARDS sau insuficiență multiplă de organ și au murit. În prezent, informațiile privind epidemiologia și caracteristicile clinice ale pneumoniei cauzate de 2019-nCoV sunt rare. Monitorizarea titrului de anticorpi poate servi drept indicație a stării infecției: IgA și IgM apar în primele zile; pe măsură ce boala progresează, IgG devine predominantă.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Test). Antigenul este legat de faza solidă. Imunoglobulinele specifice se leagă de antigen în urma incubării cu ser uman diluat. După spălare pentru a elimina proteinele care nu au reacționat, se realizează incubarea cu conjugatul format din anticorpi monoclonali anti-IgM umani conjugați cu peroxidază de hrean. Conjugatul care nu s-a legat este îndepărtat și se adaugă substratul de peroxidază. Culoarea albastră care se dezvoltă este proporțională cu concentrația de anticorpi specifici prezenți în serul respectiv.

Când reacția enzimatică este oprită prin adăugarea unei soluții de acid sulfuric, colorarea devine galbenă. Culoarea, proporțională cu cantitatea de anticorpi specifici prezenți în ser, poate fi citită într-un cititor pentru microplaci.

4. MĂSURI DE PRECAUȚIE

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și găsite negative cu teste aprobate atât pentru anticorpi HBsAg, cât și anti-HIV-1, anti-HIV-2 și anti-HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o garanție completă privind absența agenților infecțioși, orice material de origine umană trebuie considerat potențial infectat. Toți reactivii și eșantioanele trebuie manipulate conform standardelor de siguranță adoptate în mod normal în laborator.

Eliminarea deșeurilor: probele de ser și reactivii utilizați trebuie tratate ca deșuri infectate, apoi aruncate în conformitate cu dispozițiile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați epruvete și în timpul efectuării testării.
3. Spălați-vă bine pe mâini după test.
4. Aparatele care nu sunt de unică folosință trebuie să fie sterilizate după utilizare, de preferință plasarea într-o autoclavă timp de 1 oră la 121°C; toate aparatele de unică folosință trebuie aruncate în conformitate cu reglementările în vigoare.
5. Acidul clorhidric 2M utilizat pentru spălarea sticlăriei este coroziv; aceste substanțe trebuie utilizate cu precauție. În caz de contact cu pielea sau ochii, spălați-vă bine cu apă.
6. Acizii neutralizați și alte deșuri lichide trebuie dezinfectate adăugând hipoclorit de sodiu într-un volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la 1% hipoclorit de sodiu timp de 30 de minute trebuie să fie suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.
7. Orice pierderi de materiale potențial infectate trebuie îndepărtate imediat cu prosoape de hârtie, iar zona poluată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă este prezent un acid, hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat înainte de uscarea zonei.
Toate materialele utilizate pentru a decontamina orice pierdere accidentală, inclusiv mănușile, trebuie aruncate ca deșuri potențial infecțioase.
Nu se autoclavează materialele care conțin hipoclorit de sodiu.

Măsurile de precauție analitice

1. D.O. Cut-Off, controalele și probele pot fi ușor diferite între diferite plăci. Prin urmare, dacă în aceeași sesiune se folosesc strip-uri din diferite plăci, chiar dacă fac parte din același lot, este necesar să se repete determinarea Cut-Off.
2. Înainte de utilizare, aduceți toți reactivii la temperatura camerei (18-30°C). Depozitați reactivii la temperatura de depozitare recomandată imediat după utilizare.
3. Deschideți plicul care conține benzile/strip-urile după ce au stat cel puțin o jumătate de oră la temperatura camerei.
4. Nu folosiți reactivii după data de expirare. Evitați poluarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta reduce valabilitatea produsului și poate da rezultate eronate.
5. Nu modificați procedura și nici nu înlocuiți reactivii cu cei ai altor producători sau cu alte loturi, cu excepția cazului în

care se indică în mod specific că reactivul poate fi schimbat între loturi. Nu reduceți timpul recomandat de incubație.

6. Toată sticlăria care trebuie utilizată la testare trebuie spălată complet cu acid clorhidric 2M și clătită cu apă distilată sau deionizată.
7. Nu expuneți reactivii la sursa de lumina puternică sau vapori de hipoclorit în timpul fazelor de depozitare și incubare.
8. Evitați uscarea godeurilor în timpul testului.
9. Evitați să folosiți congelatoare cu autodescongelare pentru depozitarea probelor.
10. Evitați contaminarea încrucișată între reactivi. Este important să folosiți pipete „dedicate” pentru utilizare cu substratul și conjugatul.
11. Evitați să atingeți marginea godeului cu conjugatul.
12. Nu suflați pe placi.
13. Testele imunologice ale enzimelor pot avea uneori un efect de margine particular pot avea uneori un efect de margine particular; acest efect poate fi minimizat prin creșterea umidității în fazele de incubație. Plăcile trebuie acoperite cu capacele plăcilor și incubate la temperatura indicată în procedură sau într-o baie de apă folosind un suport pentru plăci sau într-un incubator. Alternativ, plăcile pot fi incubate într-un analizor adecvat. Pentru detalii suplimentare, consultați manualul de operare specific al instrumentului. Nu pot fi utilizate incubatoare de CO₂.
14. Înainte de a citi placa, asigurați-vă că partea inferioară a plăcii este curată și uscată și că nu există bule de aer pe suprafața lichidului.
15. Utilizarea de probe serice extrem de hemolizate, lipemice, icterice, care nu sunt complet coagulate sau probe care prezintă poluare microbiană pot fi o sursă de erori.
16. Evitați contaminarea godeurilor cu pudra continută de mănușile de unică folosință.
17. Utilizarea kitului cu instrumente automate trebuie să fie validată de utilizator.
18. Citiți manualul de utilizare referitor la orice instrument utilizat și, în special, cu referire la următoarele puncte:
 - instalare și cerințe speciale
 - principiul de funcționare, instrucțiuni, precauții, riscuri
 - specificațiile producătorului și performanța instrumentului
 - întreținere și asistență tehnică.

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Reactivii sunt suficienți pentru 96 de determinări.

Aduceți reactivii la temperatura camerei înainte de utilizare.

MT PLATE MICROPLACI godeuri 12x8

Continut: 1 placă cu 96 godeuri sensibilizate cu antigen nativ inactivat.

CONJ CONIUGAT 1x16 mL

Continut: Anticorpi monoclonali umani anti-IgM etichetați cu peroxidază în tampon fosfat cu fenol 0.05% și Bronidox 0.02%. Lichid, gata de utilizare.

CONTROL - CONTROL NEGATIV 1x0.8 mL

Continut: Soluție proteică nu conținând anticorpi specifici capabili să lege antigenul prezent pe microplacă și conservant. Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1x0.8mL

Continut: Soluție proteică conținând anticorpi specifici capabili să lege antigenul prezent pe microplacă și conservant. Lichid, gata de utilizare.

CONTROL CUT-OFF CONTROL CUT-OFF 1x0.8 mL

Continut: Soluție proteică conținând anticorpi specifici capabili să lege antigenul prezent pe microplacă și conservant. Lichid, gata de utilizare.

SAMP DIL 2 DILUANT 2 1x100mL

(PF93611)

INTERSCHIMBABILE ÎNTRE LOTURI

Continut: Soluție proteică în tampon fosfat cu Azida de Sodiu 0.09% și colorant (portocaliu de metil).

Utilizare: A se utiliza pentru diluarea probelor. Lichid, gata de utilizare.

SAMPLE SORBENT 4 SAMPLE SORBENT DE PROTECTIE 4 1x7mL

(PF30401)

INTERSCHIMBABILE ÎNTRE LOTURI

Continut: Soluție proteică în tampon fosfat cu Sodium Azide 0.09% și colorant (portocaliu de metil) și anticorpi anti-IgG umani.

Utilizare: A se utiliza pentru diluarea eșantioanelor (în placă). Lichid, gata de utilizare.

WASH BUF 10x TAMPON DE SPALARE 10x 1x100 mL

(PF93603)

INTERSCHIMBABILE ÎNTRE LOTURI

Continut: soluție salină tamponată concentrată (PBS) de 10 ori conținând 0.5% Brij.

Pregătire: Se diluează volumul necesar 1:10 cu apă distilată sau deionizată pentru a obține tamponul de spălare gata de utilizare. Dacă sunt prezente cristale, dizolvați-le la 37°C înainte de a dilua.

SUBS TMB SUBSTRATE 1x12 mL

(PF93619)

INTERCAMBIABILE FRA LOTTI

Continut: Tetrametilbenzidină 0.26 mg/ml și H₂O₂ 0.01% stabilizat în tampon de citrat 0.05 mol / L (pH 3.8). Lichid, gata de utilizare.

H₂SO₄ 0.3 M SOLUȚIE DE BLOCARE 1x16 mL

(PF93602)

INTERCAMBIABILE FRA LOTTI

Continut: soluție H₂SO₄ 0.3 mol/L. Lichid, gata de utilizare.

FILM PROTECTIV (2).

ALTE MATERIALE NECESARE, DAR NEINCLUSE.

- Cititor de placi (lungime de undă 450 sau 450/620 nm, cu liniaritate până la OD ≥ 2.000)
- Mașina de spălat cu microplacă (nu este esențială) capabilă să distribuie volume între 225-375 μl
- Apă distilată sau deionizată
 - Sticlărie de laborator normală: cilindri, eprubete etc.
 - Micropipete capabile să extraga cu exactitate 10, 100, 1000 μL de soluție
 - Mănuși de unică folosință

- Ceas
- 5% soluție de hipoclorit de sodiu
- Containere pentru colectarea materialelor potențial infectate
- Hârtie absorbantă / Pelicula de protecție.

6. METODA DE DEPOZITARE ȘI STABILITATE REACTIV

Reactivii trebuie pastrati la 2-8°C.

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta externă a pachetului.

Reactivii au stabilitate limitată după deschidere și / sau preparare:

MICROPLACI	4 săptămâni la 2-8°C
CONJUGAT	8 săptămâni la 2-8°C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2-8°C
CONTROL NEGATIV	8 săptămâni la 2-8°C
CONTROL CUT-OFF	8 săptămâni la 2-8°C
DILUANT 2	până la expirare la 2-8°C
SAMPLE SORBENT 4	până la expirare la 2-8°C;
SUBSTRAT	până la expirare la 2-8°C; 1 săptămână la 15-30°C; păstrați în întuneric
SOLUȚIA DE SPĂLARE	2 săptămâni la 2-8°C; 5 zile la 15-30°C
SOLUȚIE DE BLOCARE	până la expirare la 2-8°C

7. TIP DE PROBE/ESANTIOANE SI PASTRARE

Tipul probei este reprezentat de serul obținut din sângele prelevat pentru venipunctura normală și manipulat conform cerințelor procedurilor standard de laborator.

Nu sunt cunoscute consecințele utilizării altor lichide biologice. Serul proaspăt poate fi păstrat timp de 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați la -20°C.

Evitați decongelarea repetată.

Evitați utilizarea congelatoarelor autodescongelate pentru depozitarea eșantioanelor. După decongelare, agitați proba cu atenție înainte de testare.

Inactivarea căldurii poate da rezultate eronate.

Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

PREPARARE

Înainte de a începe testul, aduceți toți reactivii la temperatura camerei (18-30°C).

- Pregătiți strip-urile necesare.
- Pregătiți tamponul de spălare diluând tamponul de spălare 10x (100 mL + 900 mL H₂O).
- Diluați probele 1:51 prin distribuirea a 10 μL de ser în 0.500 mL diluant.

EFFECTUAREA TESTULUI

1. Distribuția probelor:
Se distribuie 100 μL de control (pozitiv, negativ sau oprit).
Se distribuie 50 μL de sample sorbent 4 + 50 μL de probă diluată pe godeu (este de preferat să se efectueze analiza în două exemplare).

2. Cerința minimă este 1 control negativ, 1 control pozitiv și 2 controale de oprire. (Lăsați un godeu din strip pentru alb).
2. Incubarea:
Incubați placa acoperită cu foaie adezivă la temperatura camerei timp de 60 ± 5 de minute.
3. Spălare:
Scoateți foaia adezivă, aspirați conținutul tuturor godeurilor și spălați de 4 ori umplând fiecare godeu cu 300 μL de soluție de spălare. Așteptați 30 de secunde înainte de fiecare spălare.
4. Distribuția conjugatului:
100 μL de conjugat pentru fiecare godeu al plăcii.
5. Incubarea conjugatului:
Incubați placa acoperită cu foaie adezivă la temperatura camerei timp de 60 ± 5 de minute.
6. Spălare:
Scoateți foaia adezivă, aspirați conținutul tuturor godeurilor și spălați de 4 ori umplând fiecare godeu cu 300 μL de soluție de spălare. Așteptați 30 de secunde înainte de fiecare spălare.
7. Distribuția substratului:
Adăugați 100 μL de substrat în fiecare godeu al plăcii.
8. Incubarea substratului:
Incubați placa la temperatura camerei timp de 15 minute.
9. Oprirea reacției:
Se distribuie 100 μL de soluție stop în aceeași ordine de adăugare ca în pasul 4.
10. Citirea:
Citiți documentul D.O. la 450 nm sau 450/620 nm în 30 min.
Citiți din nou la 405 nm dacă există D.O. peste 2.000.

9. DIAGRAMA TESTULUI PENTRU SARS-CoV-2 IgM

- | | |
|---------|---|
| PASUL 1 | Așezați 100 μL control (pozitiv, negative și cut off) și 50 μL de sample sorbent 4 + 50 μL de probă diluată în godeurile benzilor. Agitați. |
| - | Se incubează 60 ± 5 min. la temperatura camerei |
| - | Se spală de 4 ori (300 μL) |
| PASUL 2 | Puneti 100 μL de conjugat pe godeu |
| - | Se incubează 60 ± 5 min. la temperatura camerei |
| - | Se spală de 4 ori (300 μL) |
| PASUL 3 | Puneti 100 μL de substrat pe godeu |
| - | Se incubează 15 min. la temperatura camerei. |
| PASUL 4 | Adăugați 100 μL de Soluție Stop |
| - | Citiți la 450 nm sau 450/620 nm în 30 min. |

10. VALIDAREA TESTULUI

Alb: < 0.150

Control negativ: raportul dintre D.O. a controlului negativ și a D.O. Cut Off trebuie să fie < 0.6.

Control pozitiv: control pozitiv trebuie să aibă un D.O. de cel puțin 1.5 ori mai mare decât a serului Cut Off.

Control cut-off: la D.O. decupajul trebuie să fie > 0.2.

Dacă unul dintre rezultatele serurilor de control nu se încadrează în intervalul de acceptabilitate, repetați testul. Dacă problema persistă, contactați asistența științifică.

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

11. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Calculați raportul dintre valoarea D.O. a probei și a celui Cut Off (index).

Proba este considerata:

POSITIVA: când indicele este > 1.1
INCERTA: pentru toate valorile 0.9-1.1
NEGATIVA: când indicele este < 0.9

12. LIMITĂRI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă care sa nu fie influentate de alți indicatori referitoari la același pacient. De fapt, testul nu poate fi utilizat singur pentru un diagnostic clinic, iar rezultatul obținut trebuie întotdeauna evaluat împreună cu datele din istoricul medical al pacientului și/sau alte investigații diagnostice.

13. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 4 probe (2 negative și 2 pozitive), la care s-au adăugat următoarele interferențe:

Factorul reumatoid (44 – 220 IU/ml)
Bilirubină (4.5– 45 mg/dl)
Trigliceride (10– 250 mg/dl)
Hemoglobină (5– 30 mg/ml)

Prezența substanțelor interferente menționate mai sus în serul de testare poate modifica rezultatul testului.

14. REACTII INCRUCISATE

77 probe pozitive pentru:

Micoplasma p. (5), Citomegalovirus (4), RSV (2), Gripa B (1), Gripa A (5), Adenovirus (3), Factor reumatoid (4), ANA (22), SARS-CoV (18) și Epstein -Virus Virus (13) au fost testate.

Nu au fost detectate reacții încrucișate semnificative (cu excepția factorului reumatoid (1), Micoplasma p. (1), ANA (4), SARS- CoV (5) e Epstein-Barr Virus (5).

15. STUDII DE COMPARARE

Într-un studiu au fost analizate 397 de probe cu kitul Diesse și cu un test de imunofluorescență.

Datele procesului sunt rezumate mai jos:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	57	10	67
	-	8	322	330
	Total	65	332	397

Procent de acord pozitiv (~ Sensibilitate Diagnostică):
87.7% CI95%: 77.5-93.6.

Procent de acord negativ: (~ Specificitate Diagnostică):
97.0% CI95%: 94.5-98.3.

Analiza rezultatelor a 29 de probe cu data cunoscută a debutului simptomelor a arătat că sensibilitatea testelor ELISA crește la 10 zile de la debutul simptomelor. Sensibilitatea de 87,5% este atinsă după 12 zile.

Zile pentru debutul simptomelor	Sensibilitate
<10	58,3%
>10	70,6%
>12	87,5%

16. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Proba	In cadrul sesiunii		Intre sesiuni		Intre loturi	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	1.6	8.8	1.5	13.3	0.2	25.0*
2	0.5	10.0	2.1	11.9	2.0	7.5
3	1.9	2.6	0.8	11.3	0.5	8.0
4	0.6	10.0	0.7	10.0	1.8	10.6

* Artifact datorită efectului cunoscut de variație Coeficient, care devine extrem de sensibil la variații (chiar și foarte mici) atunci când valoarea medie este aproape de zero.

17. GHID DE UTILIZARE A PROBLEMELOR

PROBLEMA	POSSIBILE SURSE DE EROARE	MASURI DE LUAT
Sesiune nevalidă (toate negative)	Unul sau mai mulți reactivi nu au fost adăugați sau au fost adăugați în ordine greșită	Verificați din nou procedura. Verificați dacă nu s-a adăugat un anumit reactiv. Repetati proba.
	Placă neactivă	Verificați codul de pe invelisul plăcii (consultați instrucțiunile de utilizare).
		Verificați prezenta umidității de pe placa neutilizată. (Gelul de silicat trebuie să fie galben pal). Repetati proba.
Sesiune invalida (toate pozitive)	Contaminarea substratului	Prelevati o nouă alicotă a substratului.
	Spalare neadecvata	Asigurați-vă că instrumentul de spălare funcționează corect
Slaba precizie	Aspirația inadecvată a godeurilor	Asigurați-vă că instrumentul de spălare funcționează corect
	Eroare de pipetare	Asigurați-vă că instrumentul de spălare funcționează corect
	Adăugarea prea lentă a reactivilor	Evitați uscarea plăcii după spălare. Adăugați imediat reactivii
	Prezența de bule de aer	Evitați formarea de bule de aer în timpul pipetării

	Calea optică nu este clară	Verificați dacă sursa de lumină este murdară. Curățați partea inferioară a plăcii cu un țesut.
Dezvoltare de culoare insuficientă	Timpul sau temperatura incubației incorecte	Verificați monitorizarea temperaturii și timpul de incubație
	Substrat adăugat în volum inadecvat	Controlați buna funcționare a pipetei.

18. BIBLIOGRAFIE

1. Xintian et al. "Evolution of the novel coronavirus from ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission" Science China Life sciences; January 2020
2. Chen et al "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". The Lancet, Vol 395 (507-513) February 15, 2020
3. Huang et al "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". The Lancet, Vol 395 (497-506) February 15, 2020
4. Yuxian et al. "Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus" Journal of clinical microbiology-vol 43 n8 (p.3718-37296); august 2005
5. Woo at al. "Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia" Journal of clinical microbiology - vol 42 n5 (2306-2309); May 2004



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





GEBRAUCHSANLEITUNG

ENZY-WELL SARS-CoV-2 IgM

Zur qualitativen Bestimmung von Anti-SARS-CoV-2-Virus-Antikörpern der IgM-Klasse

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung von IgM-Antikörpern gegen SARS-CoV-2-Virus in Humanserum.

2. EINLEITUNG

Coronaviren sind positive einsträngige RNA-Viren, die zur Familie der Coronaviridae gehören, die in vier Gattungen unterteilt sind: Alphacoronaviren, Betacoronaviren, Gammacoronaviren und Deltacoronaviren. CoVs kommen üblicherweise bei vielen Tierarten vor. Gelegentlich können tierische CoVs durch Fehler bei der Genomreplikation genetische Mutationen erwerben und so ihren Tropismus gegenüber dem Menschen noch verstärken. Insgesamt wurden sechs menschliche CoV-Typen als verantwortlich für menschliche Atemwegserkrankungen identifiziert, darunter zwei Alpha-CoVs und vier Beta-CoVs (die beiden jüngsten sind SARS-CoV und MERS-CoV). Typischerweise verursachen diese CoVs eine asymptomatische Infektion oder schwere akute Atemwegserkrankungen, einschließlich Fieber, Husten und Kurzatmigkeit. Es wurden jedoch auch andere Symptome wie Gastroenteritis und neurologische Erkrankungen unterschiedlichen Schweregrades beobachtet. Im Dezember 2019 meldet die Weltgesundheitsorganisation das siebte menschliche Betacoronavirus (2019-nCoV), das eine Lungenentzündungsepidemie auslöste. Dieses neue Virus steht im Zusammenhang mit dem Ausbruch von Atemwegserkrankungen und Fieber in der Stadt Wuhan in der Provinz Hubei in China. Einige Patienten mit 2019-nCoV entwickelten eine schwere Lungenentzündung, ein Lungenödem, ARDS oder Multiorganversagen und starben. Gegenwärtig gibt es nur wenige Informationen über die Epidemiologie und die klinischen Merkmale der durch 2019-nCoV verursachten Lungenentzündung. Die Überwachung des Antikörpertiters kann als Hinweis auf den Infektionsstatus dienen: In den ersten Tagen treten das IgA und das IgM auf; im weiteren Verlauf der Erkrankung ist das IgG vorherrschend.

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das Antigen wird an die Festphase gebunden. In Folge der Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human- IgM-Antikörpern. Das

nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der blauen Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

Wenn die enzymatische Reaktion durch die Zugabe einer Schwefelsäurelösung unterbrochen wird, wird die Färbung gelb. Die Farbe, die proportional zur Menge der im Serum vorhandenen spezifischen Antikörper ist, kann an einem Mikroplatten-Lesegerät abgelesen werden.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit 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 und verwendeten Reagenzien müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben und während des Tests Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Die Hände nach Beendigung des Tests sorgfältig waschen.
4. Mehrweg-Ausrüstung muss nach Gebrauch sterilisiert werden, vorzugsweise durch Autoklavieren für 1 h bei 121 °C; alle Einwegausrüstungen müssen im Einklang mit den geltenden Vorschriften entsorgt werden.
5. Die zum Waschen von Glaswaren verwendete 2M-Salzsäure ist korrosiv; diese Substanzen sind mit Vorsicht zu verwenden. Bei Berührung der Haut oder Augen, diese mit reichlich Wasser spülen.
6. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
7. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde.

Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden.

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

1. Der OD des Cut-Off, der Kontrollen und der Proben kann zwischen verschiedenen Platten leicht unterschiedlich sein. Wenn also Streifen von verschiedenen Platten im selben Durchlauf verwendet werden, auch wenn sie aus derselben Charge stammen, ist es notwendig, die Cut-Off-Bestimmung zu wiederholen.
2. Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-30 °C) bringen. Die Reagenzien sofort nach Gebrauch auf die empfohlene Aufbewahrungstemperatur zurückbringen.
3. Den Umschlag mit den Streifen nach mindestens einer halben Stunde bei Raumtemperatur öffnen.
4. Die Reagenzien nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden. Eine mikrobielle Verunreinigung der Reagenzien vermeiden, da dies die Validität des Produkts verringert und zu falschen Ergebnissen führen kann.
5. Das Verfahren nicht ändern und die Reagenzien nicht durch Reagenzien anderer Hersteller oder andere Chargen ersetzen, es sei denn, es ist ausdrücklich angegeben, dass das Reagenz zwischen den Chargen austauschbar ist. Die empfohlenen Inkubationszeiten nicht verkürzen.
6. Alle Glaswaren, die im Test verwendet werden sollen, müssen gründlich mit 2M-Salzsäure gewaschen und mit destilliertem oder entionisiertem Wasser gespült werden.
7. Die Reagenzien während der Aufbewahrung und den Inkubationszeiten keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
8. Die Vertiefungen während des Tests nicht austrocknen lassen.
9. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
10. Kreuzkontaminationen zwischen Reagenzien vermeiden. Es ist wichtig, „spezielle“ Pipetten für die Verwendung mit dem Substrat und dem Konjugat zu verwenden.
11. Den Rand der Vertiefung nicht mit dem Konjugat berühren.
12. Nicht auf die Mikroplatten pusten.
13. Die Dosierungen der Enzymimmunoassays können manchmal einen besonderen Rand-Effekt („edge effect“) haben; dieser Effekt kann durch Erhöhung der Feuchtigkeit während der Inkubationszeiten minimiert werden. Die Platten sollten mit Plattendeckeln abgedeckt und bei der im Verfahren angegebenen Temperatur oder in einem Wasserbad mit einem Plattenhalter oder in einem Inkubator inkubiert werden. Alternativ können die Platten in einem geeigneten Analysator inkubiert werden. Weitere Einzelheiten entnehmen Sie bitte der entsprechenden Bedienungsanleitung des Analysators. CO₂-Inkubatoren können nicht verwendet werden.
14. Vor dem Ablesen der Platte ist sicherzustellen, dass der Boden der Platte sauber und trocken ist und dass sich keine Luftblasen auf der Oberfläche der Flüssigkeit befinden.
15. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koagulierte Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
16. Die Kontamination der Vertiefungen mit dem Puder aus Einweghandschuhen vermeiden.
17. Die Verwendung des Testsatzes mit automatischen Geräten muss durch den Bediener validiert werden.
18. Lesen Sie das Benutzerhandbuch für jedes verwendete Gerät, insbesondere in Bezug auf die folgenden Punkte:
 - Installation und spezielle Anforderungen
 - Arbeitsprinzip, Anweisungen, Vorsichtsmaßnahmen,

Risiken

- Herstellerspezifikationen und Geräteleistung
- Wartung und Kundendienst.

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Die Reagenzien sind ausreichend für 96 Bestimmungen

Die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.**MT-PLATE** MIKROPLATTE (12x8)

Inhalt: 1 Platte mit 96 Vertiefungen, sensibilisiert mit inaktiviertem nativem Antigen.

CONJ KONJUGAT 1x16 mL

Inhalt: Peroxidase-markierte monoklonale Anti-human-IgM-Antikörper in Phosphatpuffer mit 0,05 % Phenol und 0,02 % Bronidox Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL - NEGATIVE KONTROLLE 1x0.8 mL

Inhalt: Proteinlösung, die keine spezifischen Antikörper enthält, die in der Lage sind, das auf der Mikroplatte vorhandene Antigen zu binden, und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1x0.8 mL

Inhalt: Proteinlösung mit spezifischen Antikörpern, die in der Lage sind, das auf der Mikroplatte vorhandene Antigen zu binden, und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL CUT-OFF CUT-OFF-KONTROLLE 1x0.8 mL

Inhalt: Proteinlösung mit spezifischen Antikörpern, die in der Lage sind, das auf der Mikroplatte vorhandene Antigen zu binden, und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

SAMP DIL 2 VERDÜNNUNGSMEDIUM 2 1x100 mL (PF93611)**ZWISCHEN DEN CHARGEN AUSTAUSCHBAR**

Inhalt: Proteinlösung in Phosphatpuffer mit Natriumazid 0.09 % und Farbstoff (Methylorange).

Verwendung: Zur Verdünnung der Proben zu verwenden. Flüssig, gebrauchsfertig.

SAMPLE SORBENT 4 SORBENS-PROBE 4 1x7 mL (PF30401)**ZWISCHEN DEN CHARGEN AUSTAUSCHBAR**

Inhalt: Proteinlösung in Phosphatpuffer mit Natriumazid 0.09 % und Farbstoff (Methylorange) und Anti-human-IgG-Antikörpern.

Verwendung: Zur Verwendung für die Verdünnung der Proben (in Platte). Flüssig, gebrauchsfertig.

WASH BUF 10x WASCHPUFFER 10x 1x100 mL (PF93603)**ZWISCHEN DEN CHARGEN AUSTAUSCHBAR**

Inhalt: Gepufferte Kochsalzlösung (PBS) in 10-facher Konzentration mit Brij 0.5 %.

Vorbereitung: Das erforderliche Volumen 1:10 mit destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen, um den gebrauchsfertigen Waschpuffer zu erhalten. Falls Kristalle vorhanden sind, diese vor dem Verdünnen bei 37 °C auflösen.

SUBS TMB SUBSTRAT 1x12 mL
(PF93619)

ZWISCHEN DEN CHARGEN AUSTAUSCHBAR

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

H₂SO₄ 0.3 M BLOCKIERLÖSUNG 1x16 mL
(PF93602)

ZWISCHEN DEN CHARGEN AUSTAUSCHBAR

Inhalt: H₂SO₄ 0.3 mol/L-Lösung. Flüssig, gebrauchsfertig.

SCHUTZFOLIE (2).

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- Mikroplatten-Lesegerät (Wellenlänge 450 oder 450/620 nm, Linearität bis zu OD ≥ 2.000)
- Mikroplatten-Washer (empfehlenswert) für ein Dispensiervolumen zwischen 225-375 µl
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von 10, 100 und 1000 µl der Lösung
- Einweghandschuhe
- Timer
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien
- Saugfähiges Papier

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2-8 °C aufbewahrt werden.

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

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

MIKROPLATTE	4 Wochen bei 2-8 °C
KONJUGAT	8 Wochen bei 2-8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2-8 °C
NEGATIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2-8 °C
CUT-OFF-KONTROLLE	8 Wochen bei 2-8 °C
VERDÜNNUNGSMEDIUM 2	bis zum Verfallsdatum bei 2-8 °C
SORBENSPELLE 4	bis zum Verfallsdatum bei 2-8 °C
SUBSTRAT	bis zum Verfallsdatum bei 2-8 °C; 1 Woche bei 15-30 °C; im Dunkeln aufbewahren
WASCHPUFFER	2 Wochen bei 2-8 °C; 5 Tage bei 15-30 °C
BLOCKIERLÖSUNG	bis zum Verfallsdatum bei 2-8 °C

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

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

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

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

Wiederholtes Auftauen vermeiden.

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

Eine Hitzeinaktivierung kann zu falschen Ergebnissen führen.

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

8. VORGEHENSWEISE

VORBEREITUNG

Alle Reagenzien vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18-30 °C) bringen.

- Die erforderlichen Teststreifen vorbereiten.
- Den Waschpuffer vorbereiten, indem er 10x verdünnt wird (100 mL + 900 mL H₂O).
- Proben 1:51 verdünnen, indem 10 µL Serum in 0,500 mL Verdünnungsmedium gegeben werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

1. Verteilung der Proben:
100 µl der Kontrolle (positiv, negativ oder Cut-off) dispensieren.
50 µl der Sorbensprobe 4 + 50 µl der verdünnten Probe in alle Vertiefungen dispensieren (Doppelanalyse ist vorzuziehen).
Die Mindestanforderung beinhaltet 1 Negativkontrolle, 1 Positivkontrolle und 2 Cut-Off-Kontrollen. (eine Vertiefung des Streifens für Weiß lassen).
2. Inkubation:
Die mit Klebefolie abgedeckte Platte 60 ± 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
3. Waschen:
Die Klebefolie entfernen, den Inhalt aller Vertiefungen absaugen und 4 Mal waschen, indem jede Vertiefung mit 300 µL Waschlösung gefüllt wird. Vor jedem Waschvorgang 30 Sekunden warten.
4. Verteilung des Konjugats:
100 µL Konjugat in alle Vertiefungen der Platte pipettieren.
5. Inkubation des Konjugats:
Die mit Klebefolie abgedeckte Platte 60 ± 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Waschen:
Die Klebefolie entfernen, den Inhalt aller Vertiefungen absaugen und 4 Mal waschen, indem jede Vertiefung mit 300 µL Waschlösung gefüllt wird. Vor jedem Waschvorgang 30 Sekunden warten.
7. Verteilung des Substrats:
100 µL Substrat in alle Vertiefungen der Platte pipettieren.
8. Inkubation des Substrats:
Die Platte 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Stoppen der Reaktion:
100 µL der Blockierlösung in der gleichen Reihenfolge wie in Schritt 4 dispensieren.
10. Ablesung:

OD-Werte bei 450 nm oder 450/620 nm innerhalb von 30 min ablesen. Erneut bei 405 nm ablesen, wenn die OD-Werte größer als 2.000 sind.

9. TESTSCHEMA FÜR SARS-CoV-2 IgM

- SCHRITT 1 100 µl Kontrollen (Positiv-, Negativ- und Cut-off-Kontrollen) und 50 µl Sorbensprobe 4 + 50 µl verdünnten Probe in die Vertiefungen der Streifen geben. Schütteln.
-
60 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
-
4 Mal waschen (300 µL)
-
- SCHRITT 2 100 µL Konjugat in alle Vertiefungen zugeben
-
60 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
-
4 Mal waschen (300 µL)
-
- SCHRITT 3 100 µL Substrat in alle Vertiefungen zugeben
-
15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
-
- SCHRITT 4 100 µL Blockierlösung hinzufügen
-
OD-Werte bei 450 nm oder 450/620 nm innerhalb von 30 min ablesen.

10. TESTVALIDIERUNG

Weiß: < 0.150

Negative Kontrolle: Das Verhältnis zwischen dem OD der negativen Kontrolle und dem OD des Cut-Off muss < 0.6 sein.

Positivkontrolle: Die Positivkontrolle muss einen OD-Wert aufweisen, der mindestens 1,5-mal so hoch wie der des Cut-off-Serums ist.

Cut-off-Kontrolle: Der OD-Wert des Cut-off muss > 0.2 sein.

Den Test wiederholen, wenn eines der Ergebnisse der Kontrollseren außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt. Wenn das Problem weiterhin besteht, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

E-Mail: scientificsupport@diesse.it

11. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Das Verhältnis zwischen dem OD-Wert der Probe und dem des Cut-Off (Index) berechnen.

Die Probe wird wie folgt bewertet:

POSITIV: bei Index > 1.1

ZWEIFELHAFT: für alle Werte zwischen 0.9-1.1

NEGATIV: bei Index < 0.9

12. GRENZEN DES VERFAHRENS

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

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

13. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 4 Proben (2 negative und 2 positive) getestet, denen folgende Interferenten beigefügt wurden:

Rheumafaktor (44 – 220 IU/ml)

Bilirubin (4.5 – 45 mg/dl)

Triglyceride (10 – 250 mg/dl)

Hämoglobin (5 – 30 mg/ml)

Die Präsenz der oben genannten Interferenten im untersuchten Serum kann das Testergebnis beeinflussen.

14. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 77 positive Proben

(Mycoplasma p. (5), Cytomegalovirus (4), RSV (2), Influenza B (1), Influenza A (5), Adenovirus (3), Rheumafaktor (4), ANA (22), SARS-CoV (18) und Epstein-Barr-Virus (13)) getestet.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt (mit Ausnahme von Mycoplasma p. (1), Rheumafaktor (1), ANA (4), SARS-CoV (5) und Epstein-Barr-Virus (5)).

15. VERGLEICHSTUDIEN

In einem Versuch wurden 397 Proben mit dem Diesse-Testsatz und einem Immunfluoreszenztest getestet.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	57	10	67
	-	8	322	330
	Insgesamt	65	332	397

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

87.7% CI95 %: 77.5-93.6.

Negative Übereinstimmung: (~ Diagnostische Spezifität):

97.0% CI95 %: 94.5-98.3.

Die Analyse der Ergebnisse der 29 Proben, bei denen das Datum des ersten Auftretens der Symptome bekannt ist, zeigt, dass die Empfindlichkeit der ELISA-Tests 10 Tage nach dem Auftreten der Symptome zunimmt. Eine Empfindlichkeit von 87,5% wird nach 12 Tagen erreicht.

Tage für das Auftreten der Symptome	Empfindlichkeit
<10	58,3%
>10	70,6%
>12	87,5%

16. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen		Zwischen Chargen	
	Mittelwert Index	CV %	Mittelwert Index	CV %	Mittelwert Index	CV %
1	1.6	8.8	1.5	13.3	0.2	25.0*
2	0.5	10.0	2.1	11.9	2.0	7.5
3	1.9	2.6	0.8	11.3	0.5	8.0
4	0.6	10.0	0.7	10.0	1.8	10.6

*Artefakt aufgrund des bekannten Effekts der Koeffizientenvariation, die äußerst empfindlich gegenüber Variationen wird (auch wenn diese sehr gering sind), wenn sich der Mittelwert nahe bei Null befindet.

17. ANLEITUNG ZUR PROBLEMLÖSUNG

PROBLEM	MÖGLICHE URSACHEN	ABHILFEMASSNAHMEN
Ungültiger Durchlauf (alle negativ)	Eine oder mehrere Reagenzien wurden nicht oder in der falschen Reihenfolge zugefügt.	Das Verfahren erneut überprüfen. Überprüfen, ob alle Reagenzien hinzugefügt wurden. Den Test wiederholen.
	Nichtreaktive Platte	Den Code auf der Plattenpackung prüfen (siehe Bedienungsanleitung).
		Prüfen ob die ungenutzte Platte feucht ist. (Das Kieselgel muss blassgelb sein). Den Test wiederholen.
Ungültiger Durchlauf (alle positiv)	Verunreinigung des Substrats	Eine neue Teilmenge des Substrats entnehmen.
	Unsachgemäßes Waschen	Sicherstellen, dass der Washer ordnungsgemäß funktioniert
Mangelnde Präzision	Unzureichende Absaugung der Vertiefungen	Sicherstellen, dass der Washer ordnungsgemäß funktioniert
	Pipettierfehler	Das Funktionieren der Pipette prüfen
	Zugabe von Reagenzien zu langsam	Das Trocknen der Platte nach dem Waschen vermeiden. Reagenzien sofort hinzufügen
	Vorhandensein von Luftblasen	Die Bildung von Luftblasen beim Pipettieren vermeiden
	Strahlengang nicht klar	Die Lichtquelle auf Verschmutzungen prüfen. Die Unterseite der Platte mit einem Papiertuch reinigen.
Unzureichende Farbentwicklung	Inkorrekte Inkubationszeit oder Temperatur	Temperaturüberwachung und Inkubationszeit prüfen
	Zugabe eines unzureichenden Substratvolumens	Das Funktionieren der Pipette prüfen.









18. LITERATUR

- Xintian et al. «Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission». *Science China Life Sciences*; January 2020
- Chen et al. «Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study». *The Lancet*, Vol. 395 (507-513) February 15, 2020
- Huang et al. «Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China». *The Lancet*, Vol. 395 (497-506) February 15, 2020
- Yuxian et al. «Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus». *Journal of Clinical Microbiology* - Vol. 43 n8 (p.3718-37296); august 2005
- Woo at al. «Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia». *Journal of Clinical Microbiology* - Vol. 42 n5 (2306-2309); May 2004



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



	EN ES IT DE	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro Verwendbar bis	FR GR PT CZ	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Použijte do
	EN ES IT DE	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	FR GR PT CZ	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Pozor, řiďte se návodem k použití
	EN ES IT DE	Manufacturer Fabricante Fabbicante Hersteller	FR GR PT CZ	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Výrobce
	EN ES IT DE	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Inhalt reicht für „n“ Tests	FR GR PT CZ	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Obsah stačí na < n > testů
	EN ES IT DE	Temperature limitation Limite de temperatura Limiti di temperatura Temperaturgrenzwerte	FR GR PT CZ	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Teplotní omezení
	EN ES IT DE	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Die Gebrauchsanleitung lesen	FR GR PT CZ	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Čtěte návod k použití
	EN ES IT DE	Biological risks Riesgo biológico Rischio biológico Biologisches Risiko	FR GR PT CZ	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico Biologická rizika
	EN ES IT DE	Batch code Código de lote Codice del lotto Chargennummer	FR GR PT CZ	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Kód šarže