

CHORUS

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IgG


DIESSE

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

REF
81036
REF
81036/12

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual	REF – 5





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IgG

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti-Respiratory Syncytial Virus

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgG anti-Respiratory Syncytial Virus nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Il virus respiratorio sinciziale (RSV) è il principale responsabile di infezioni respiratorie acute in età pediatrica. La maggior parte delle infezioni si manifesta entro i primi 6-12 mesi di vita, spesso sottoforma di improvvise epidemie stagionali. Per la gravità delle forme morbose causate (bronchioliti, polmoniti) l'RSV può essere considerato il virus con il più alto tasso di morbilità nella primissima infanzia, a cui può associarsi anche una certa mortalità, soprattutto fra soggetti affetti da altre gravi patologie.

L'RSV ha distribuzione geografica ubiquitaria e provoca infezioni respiratorie caratteristiche nei bambini, in qualsiasi zona climatica e con sintomatologia del tutto simile. Le epidemie insorgono in modo brusco, hanno in genere una durata limitata e si verificano ogni anno con andamento regolare e prevedibile. Nei climi temperati il periodo epidemico va da dicembre ad aprile con maggiore incidenza fra febbraio e marzo, mentre nei climi tropicali le epidemie solitamente coincidono con il periodo delle piogge.

La valutazione di anticorpi di classe IgG nell'adulto, permette accanto a considerazioni di tipo epidemiologico, di confermare la presenza di un'infezione in corso, quando viene riscontrato un titolo alto di IgG oppure un aumento significativo delle IgG tra due prelievi eseguiti a distanza di circa 2 settimane l'uno dall'altro. La risposta anticorpale IgG, invece, si è osservata non essere rilevante nei bambini, soprattutto nel primo anno di vita, nei quali, in caso di infezione acuta, si evidenzia una risposta prevalentemente a carico di anticorpi di classe IgA. L'87% dei bambini con infezione in corso, infatti, presenta un tasso elevato di IgA, mentre soltanto in un 20% si riscontrano anticorpi di classe IgG.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Respiratory Syncytial Virus IgG è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-

Respiratory Syncytial Virus, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con siero umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-IgG umane coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

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

I risultati sono espressi in Index (OD campione/OD cut-off).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81036)

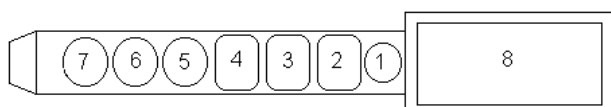
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81036/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81036).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81036/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene di RSV

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

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-Respiratory Syncytial Virus e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-Respiratory Syncytial Virus e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- 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 monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erronei.

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

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

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 7 campioni ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Trigliceridi (n=2)

PCR (n=2)

RF (n=2)

Bilirubina (n=1)

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

13. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 104 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	69	3	72
	-	1	31	32
	Totale	70	34	104

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

98.6% CI_{95%}: 92.3 – 99.8

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

91.2% CI_{95%}: 77.0 – 97.0

14. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

PRECISIONE ALL'INTERNO DELLA SEDUTA

Lotto	No. replicati	Media Index	D.S.	CV%
617-S	16	1.6	0.13	8.1
618-S	16	1.5	0.16	10.7
619-S	16	1.5	0.14	9.3

PRECISIONE TRA SEDUTE

		Media Index			Media	D.S	CV%
		Gior 1	Gior 2	Gior 3			
617-S	Std 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
	Std 2	1.0	1.1	0.9	1.0	0.10	10.0
	Std 3	1.6	2.0	1.8	1.8	0.20	11.1
618-S	Std 1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.06	20.0
	Std 2	1.0	1.1	1.1	1.1	0.06	5.5
	Std 3	1.7	2.2	1.9	1.9	0.25	13.2
619-S	Std 1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.06	30.0*
	Std 2	0.9	0.9	1.1	1.0	0.12	12.0
	Std 3	1.7	1.7	1.9	1.8	0.12	6.7

*Artefatto dovuto al noto effetto di Variazione del Coefficiente che diventa estremamente sensibile a variazioni (anche molto piccole) quando il valore di media è vicino a zero.

15. BIBLIOGRAFIA

1. K. Krasinski. 1985. Severe respiratory syncytial virus infection: clinical features, nosocomial acquisition and outcome. *Pediatr. Infect. Dis.* 4: 250-257.
2. W.V. La Via, M.I. Marks, H.R. Stutman. 1992 Respiratory syncytial virus puzzle: clinical features, pathophysiology, treatment and prevention. *J. Pediatr.* 121: 503-510.
3. C.B.Hall, R.G. Douglas, J.M. Geiman. 1976. Respiratory syncytial virus infection in infants: quantitation and duration of shedding. *J. Pediatr.* 89:11-15.
4. T.M. De Sierra, M. Kumar, E.T. Wasser, R.B. Murphy, E.K. Subbarao. 1993. Respiratory syncytial virus-specific immunoglobulins in preterm infants. *J. Pediatr.* 122: 787-791.
5. B.R. Murphy, D.W. Alling, M.H. Snyder, E.E. Walsh. 1986. Effect of age and preexisting antibody on serum antibody response of infants and children to the F and G glycoproteins during respiratory syncytial virus infection. *J. Clin. Microb.* 24 : 894-898.
6. L.J. Anderson, J.C. Hierholzer, C. Tsou. 1985. Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.* 151 : 626-632
7. H.B. Gimenez, P. Cash, T. Melvin. 1984. Monoclonal antibodies to human respiratory syncytial virus and their use in comparison of different virus isolates. *J. Gen. Virol.* 65 :963-971.
8. M.A. Mufson, C. Orwell, B. Rafner. 1985. Two distinct subtype of human respiratory virus. *J. Gen. Virol.* 66 :2111-2114
9. P.R. Johnson, P.L. Collins. 1990. Sequence comparison of the phosphoprotein mRNAs of antigenic subgroups A and B of human respiratory syncytial virus identifies a highly divergent domain in the predicted protein. *J. Gen. Virol.* 71 :481-485.
10. W.P. Glezen, F.W. Denny F.W. 1973. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N. Engl. J. Med.* 288 :498-50
11. C.B. Hall, E.E. Walsh, K.C. Schnabel. 1990. The occurrence of group A and B of respiratory syncytial virus

over 15 years : the associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized And ambulatory children. *J. infect. Dis.* 162 : 1283 :1290.

12. K.M. Mc Connachie, C.B. Hall, E.E. Walsh. 1990. Variation in severity of respiratory syncytial virus infection with subtype. *J. Pediatr.* 117 :52-62.
13. M.J. Meddens, P. Herbrink, J. Lindeman, W.C. van Dijk. 1990. Serodiagnosis of respiratory syncytial virus (RSV) infection in children as measured by detection of RSV-specific immunoglobulins G, M and A with enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 28(1):152-5



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IgG

For the qualitative determination of anti-Respiratory Syncytial Virus IgG antibodies

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgG class antibodies against Respiratory Syncytial Virus in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

The Respiratory Syncytial Virus (RSV) is the major cause of respiratory acute infections during infancy and childhood. Most of the infections caused by RSV occur during the first 6-12 months of life, often as sudden seasonal epidemics. The RSV can be considered the virus with the highest rate of morbidity in early childhood because of the severe illnesses caused (bronchiolitis, pneumonia), even resulting in death, especially in those patients affected by other severe pathologies.

The RSV is ubiquitous in all parts of the world and causes respiratory infections primarily in children, in all the climate zones and with similar symptomatology.

The annual epidemics are sudden, generally have short duration and a regular and predictable course. In temperate climates the epidemics occur between December and April, with a peak in February and March. In tropical climates the epidemics usually occur during the rainy season.

The determination of IgG class antibodies in adults, not only permits observations of epidemiologic type, but also will confirm the presence of infection in progress. A high IgG titer or a significant increase of IgG between two samples taken approximately 2 weeks apart confirm that there is an infection in progress.

On the contrary in children it was observed that the IgG antibody response is not relevant, especially during their first year. In the case of acute infection in children a response of IgA class antibodies is mainly found. Indeed 87% of children with an infection in progress present a high rate of IgA, while only 20% present IgG class antibodies.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). The antigen is bound to the solid

phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted human serum.

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

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus/Chorus TRIO instruments. The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81036).

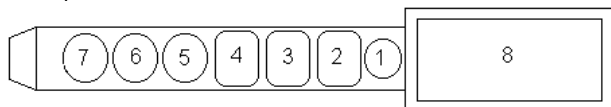
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81036/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 81036).

2 packages each containing 6 devices (REF 81036/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with RSV 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: SAMPLE DILUENT

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

Positon 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing anti-Respiratory Syncytial Virus IgG antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing anti-Respiratory Syncytial Virus IgG antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS 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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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.

Heat-inactivation can rise to erroneous results.

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

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 50 µl of undiluted test 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 Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument 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 Instrument 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/Chorus TRIO instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

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

POSITIVE: when the result is > 1.1

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

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

11. LIMITATIONS

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

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

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

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

Triglycerides (n=2)

C-Reactive Protein (n=2)

Rheumatoid factor (n=2)

Bilirubin (n=1)

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

13. METHOD COMPARISON

In an experimentation 104 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	69	3	72
	-	1	31	32
	Total	70	34	104

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

98.6% CI_{95%}: 92.3 – 99.8

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

91.2% CI_{95%}: 77.0 – 97

14. PRECISION AND REPEATABILITY

WITHIN-RUN PRECISION

Lot	Replicates	Mean Index	S.D.	CV%
617-S	16	1.6	0.13	8.1
618-S	16	1.5	0.16	10.7
619-S	16	1.5	0.14	9.3

BETWEEN-RUN PRECISION

		Mean Index			Mean	S.D.	CV%
		Day 1	Day 2	Day 3			
617-S	Std 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
	Std 2	1.0	1.1	0.9	1.0	0.10	10.0
	Std 3	1.6	2.0	1.8	1.8	0.20	11.1
618-S	Std 1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.06	20.0
	Std 2	1.0	1.1	1.1	1.1	0.06	5.5
	Std 3	1.7	2.2	1.9	1.9	0.25	13.2
619-S	Std 1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.06	30.0*
	Std 2	0.9	0.9	1.1	1.0	0.12	12.0
	Std 3	1.7	1.7	1.9	1.8	0.12	6.7

* Artifact caused by the known fault of Variation Coefficient which becomes extremely sensitive to even very small changes in the mean when the mean value is near zero

15. REFERENCES

1. 1. K. Krasinski. 1985. Severe respiratory syncytial virus infection: clinical features, nosocomial acquisition and outcome. *Pediatr. Infect. Dis.* 4: 250-257.
2. W.V. La Via, M.I. Marks, H.R. Stutman. 1992 Respiratory syncytial virus puzzle: clinical features, pathophysiology, treatment and prevention. *J. Pediatr.* 121: 503-510.
3. C.B.Hall, R.G. Douglas, J.M. Geiman. 1976. Respiratory syncytial virus infection in infants: quantitation and duration of shedding. *J. Pediatr.* 89:11-15.
4. T.M. De Sierra, M. Kumar, E.T. Wasser, R.B. Murphy, E.K. Subbarao. 1993. Respiratory syncytial virus-specific immunoglobulins in preterm infants. *J. Pediatr.* 122: 787-791.
5. B.R. Murphy, D.W. Alling, M.H. Snyder, E.E. Walsh. 1986. Effect of age and preexisting antibody on serum antibody response of infants and children to the F and G glycoproteins during respiratory syncytial virus infection. *J. Clin. Microb.* 24 : 894-898.
6. L.J. Anderson, J.C. Hierholzer, C. Tsou. 1985. Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.* 151 : 626-632
7. H.B. Gimenez, P. Cash, T. Melvin. 1984. Monoclonal antibodies to human respiratory syncytial virus and their use in comparison of different virus isolates. *J. Gen. Virol.* 65 :963-971.
8. M.A. Mufson, C. Orwell, B. Rafner. 1985. Two distinct subtype of human respiratory virus. *J. Gen. Virol.* 66 :2111-2114
9. P.R. Johnson, P.L. Collins. 1990. Sequence comparison of the phosphoprotein mRNAs of antigenic subgroups A and B of human respiratory syncytial virus identifies a highly divergent domain in the predicted protein. *J. Gen. Virol.* 71 :481-485.
10. W.P. Glezen, F.W. Denny F.W. 1973. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N. Engl. J. Med.* 288 :498-50
11. C.B. Hall, E.E. Walsh, K.C. Schnabel. 1990. The occurrence of group A and B of respiratory syncytial virus over 15 years : the associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J. infect. Dis.* 162 : 1283 :1290
12. K.M. Mc Connochie, C.B. Hall, E.E. Walsh. 1990. Variation in severity of respiratory syncytial virus infection with subtype. *J. Pediatr.* 117 :52-62.
13. M.J. Meddens, P. Herbrink, J. Lindeman, W.C. van Dijk. 1990. Serodiagnosis of respiratory syncytial virus (RSV) infection in children as measured by detection of RSV-specific immunoglobulins G, M and A with enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 28(1):152-5



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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IgG

**Pro kvalitativní stanovení
protilátek IgG proti respiračnímu syncytiálnímu
viru**

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k kvalitativnímu stanovení IgG protilátek proti respiračnímu syncytiálnímu viru v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Respirační syncytiální virus (RSV) je hlavním původcem respiračních onemocnění v pediatrickém věku. Většina infekcí se projevuje během prvních 6–12 měsíců života, často v podobě náhlých sezónních epidemií. Vzhledem k závažnosti onemocnění, která RSV způsobuje (bronchiolitidy, pneumonie), lze tento virus považovat za virus s nejvyšší morbiditou v raném dětství, s nímž je spojena také určitá mortalita, zejména u jedinců trpících jinými závažnými onemocněními.

RSV je široce geograficky rozšířen a způsobuje charakteristické respirační infekce u dětí ve všech klimatických oblastech a s velmi podobnými příznaky. Epidemie propukají náhle, obvykle trvají omezenou dobu, přicházejí každoročně a jejich průběh je předvídatelný. V mírném podnebném pásu trvá epidemické období od prosince do dubna, s nejvyšším výskytem onemocnění v únoru a březnu, zatímco v tropickém podnebí se epidemie obvykle kryjí s obdobími dešťů.

Stanovení protilátek třídy IgG u dospělých umožňuje kromě epidemiologických opatření také potvrzení přítomnosti probíhající infekce, pokud dojde ke zjištění vysoké hladiny protilátek IgG nebo významného zvýšení hladiny protilátek IgG mezi dvěma odběry provedenými s odstupem přibližně 2 týdnů. Ukázalo se však, že protilátková odpověď ve třídě IgG není relevantní u dětí, zejména v prvním roce života. U nich byla prokázána převážně tvorba protilátek třídy IgA. 87 % dětí s probíhající infekcí vykazuje vysokou hladinu IgA, zatímco pouze u 20 % jsou přítomny protilátky třídy IgG.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus Respiratory Syncytial Virus IgG je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti respiračnímu syncytiálnímu viru, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi.

Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se provede inkubace s konjugátem složeným z anti-lidských monoklonálních IgG protilátek konjugovaných s křenovou peroxidázou. Dochází k eliminaci nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Modré zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou 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 vzorky sér, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

- Nepipetujte ústy.
- Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
- Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
- Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
- 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.
- 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 otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevrháte do autoklávy.

Opatření pro správné provedení testu

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

13. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
14. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
15. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
16. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
20. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
21. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
22. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
23. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
24. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 81036).

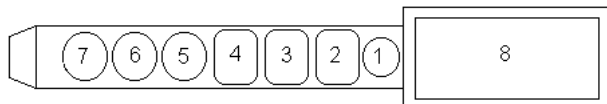
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 81036/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 81036).

2 balení po 6 nástrojích (REF 81036/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená antigenem RSV

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující 0.05% fenol 0.02% Bronidox a indikátor ukazující na přítomnost séra.

Pozice 2: KONJUGÁT

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

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.175 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti respiračnímu syncytiálnímu viru a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.425 ml

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti respiračnímu syncytiálnímu viru a konzervační prostředek. 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.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagenty je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagenty 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.

Reagenty mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

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 skladovat 4 dny při teplotě 2–8°C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20 °C.

Rozmrazovat se smí maximálně 3 krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus / Chorus TRIO vyjadřuje výsledky formou indexu (OD vzorku/OD cut-off).

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1.1

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0.9

SPORNÝ/NEJASNĚ pro všechny hodnoty mezi 0.9 a 1.1

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný/nejednoznačný, seberte nový vzorek.

11. 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 samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 7 vzorků obsahujících následující rušivé substance.

Triglyceridy (n=2)

PCR (n=2)

RF (n=2)

Bilirubin (n=1)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séra nezměnila výsledky testu.

13. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 104 Vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	–	Celkem
Diesse	+	69	3	72
	–	1	31	32
	Celkem	70	34	104

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

98.6% CI_{95%}: 92.3 – 99.8

Negativní shoda v procentech (~ diagnostická specifičnost):

91.2% CI_{95%}: 77.0 – 97.0

14. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

PRESNOST V RAMCI MERENÍ

Šarže č.	Počet replikátů	Průměr Index	Stand. odchylka	CV%
617-S	16	1.6	0.13	8.1
618-S	16	1.5	0.16	10.7
619-S	16	1.5	0.14	9.3

PRESNOST MEZI MERENÍMI

		Průměr Index			Průměr r	Stand. odchylka	CV%
		Den 1	Den 2	Den 3			
617-S	Std 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
	Std 2	1.0	1.1	0.9	1.0	0.10	10.0
	Std 3	1.6	2.0	1.8	1.8	0.20	11.1
618-S	Std 1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.06	20.0
	Std 2	1.0	1.1	1.1	1.1	0.06	5.5
	Std 3	1.7	2.2	1.9	1.9	0.25	13.2
619-S	Std 1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.06	30.0*
	Std 2	0.9	0.9	1.1	1.0	0.12	12.0

	Std 3	1.7	1.7	1.9	1.8	0.12	6.7
--	-------	-----	-----	-----	-----	------	-----

* Artefakt způsobený známou chybou variačního koeficientu. který se stává extrémně citlivým i na velmi malé změny střední hodnoty. blíží-li se tato hodnota nule



53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

15. REFERENČNÍ LITERATURA

1. K. Krasinski. 1985. Severe respiratory syncytial virus infection: clinical features, nosocomial acquisition and outcome. *Pediatr. Infect. Dis.* 4: 250-257.
2. W.V. La Via, M.I. Marks, H.R. Stutman. 1992 Respiratory syncytial virus puzzle: clinical features, pathophysiology, treatment and prevention. *J. Pediatr.* 121: 503-510.
3. C.B.Hall, R.G. Douglas, J.M. Geiman. 1976. Respiratory syncytial virus infection in infants: quantitation and duration of shedding. *J. Pediatr.* 89:11-15.
4. T.M. De Sierra, M. Kumar, E.T. Wasser, R.B. Murphy, E.K. Subbarao. 1993. Respiratory syncytial virus-specific immunoglobulins in preterm infants. *J. Pediatr.* 122: 787-791.
5. B.R. Murphy, D.W. Alling, M.H. Snyder, E.E. Walsh. 1986. Effect of age and preexisting antibody on serum antibody response of infants and children to the F and G glycoproteins during respiratory syncytial virus infection. *J. Clin. Microb.* 24 : 894-898.
6. L.J. Anderson, J.C. Hierholzer, C. Tsou. 1985. Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.* 151 : 626-632
7. H.B. Gimenez, P. Cash, T. Melvin. 1984. Monoclonal antibodies to human respiratory syncytial virus and their use in comparison of different virus isolates. *J. Gen. Virol.* 65 :963-971.
8. M.A. Mufson, C. Orwell, B. Rafner. 1985. Two distinct subtype of human respiratory virus. *J. Gen. Virol.* 66 :2111-2114
9. P.R. Johnson, P.L. Collins. 1990. Sequence comparison of the phosphoprotein mRNAs of antigenic subgroups A and B of human respiratory syncytial virus identifies a highly divergent domain in the predicted protein. *J. Gen. Virol.* 71 :481-485.
10. W.P. Glezen, F.W. Denny F.W. 1973. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N. Engl. J. Med.* 288 :498-50
11. C.B. Hall, E.E. Walsh, K.C. Schnabel. 1990. The occurrence of group A and B of respiratory syncytial virus over 15 years : the associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J. infect. Dis.* 162 : 1283 :1290.
12. K.M. Mc Connochie, C.B. Hall, E.E. Walsh. 1990. Variation in severity of respiratory syncytial virus infection with subtype. *J. Pediatr.* 117 :52-62.
13. M.J. Meddens, P. Herbrink, J. Lindeman, W.C. van Dijk. 1990. Serodiagnosis of respiratory syncytial virus (RSV) infection in children as measured by detection of RSV-specific immunoglobulins G, M and A with enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 28(1):152-5

DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IgG

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti-Respiratory Syncytial Virus

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti-Respiratory Syncytial Virus en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

El virus respiratorio sincitial (VRS) es el principal responsable de las infecciones respiratorias agudas en pacientes de pediatría. La mayor parte de las infecciones se manifiestan entre los 6 y los 12 meses de vida, a menudo en forma de epidemias estacionales repentinas. En cuanto a la gravedad de las enfermedades que causa (bronquiolitis y pulmonitis), puede considerarse que el VRS es el virus con la tasa de morbilidad más alta en la primera infancia, al que también puede asociarse una cierta mortalidad, sobre todo entre personas que padecen otras patologías graves.

El VRS está presente en todas las regiones del mundo, provoca infecciones respiratorias típicas en niños de cualquier zona climática y presenta síntomas similares. Las epidemias aparecen de forma repentina, suelen tener una duración limitada, se producen todos los años y su evolución es regular y predecible. En los climas templados, el periodo epidémico abarca de diciembre a abril, con mayor incidencia entre febrero y marzo, mientras que las epidemias suelen coincidir con la estación de lluvias en los climas tropicales.

Además de las consideraciones de tipo epidemiológico, el análisis de anticuerpos de clase IgG en adultos permite confirmar la presencia de una infección en curso cuando se detecta un título alto de IgG o un aumento significativo de IgG entre dos extracciones realizadas con una diferencia de tiempo de 2 semanas. Sin embargo, se ha determinado que la respuesta de anticuerpos IgG no es relevante en los niños, especialmente durante el primer año de vida, ya que en ellos se produce principalmente una respuesta relacionada con los anticuerpos de clase IgA en caso de infección aguda. El 87% de los niños que tienen infección presenta una concentración de IgA alta, mientras que solo se detectan anticuerpos de clase IgG en el 20% de ellos.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Respiratory Syncytial Virus IgG está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-Respiratory Syncytial Virus, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

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

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

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El resultado se expresa en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y lo del Cut-Off).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.

6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

- Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
- Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
- Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
- Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
- Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
- No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
- Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
- Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
- No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
- El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
- No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.
- Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81036).

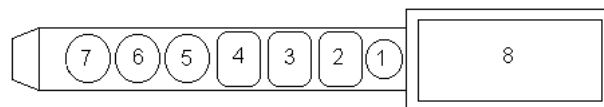
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81036/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81036).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81036/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con antígeno RSV

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H₂O₂ 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas, con fenol al 0.05%, Bronidox al 0.02% y un marcador para indicar la presencia de suero.

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-Respiratory Syncytial Virus y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-Respiratory Syncytial Virus y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER (REF 83606)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces.

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

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el 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/Chorus TRIO proporciona un resultado en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y el del Cut-Off).

La prueba del suero examinado se puede interpretar de la manera siguiente:

POSITIVO cuando el resultado es > 1.1

NEGATIVO cuando el resultado es < 0.9

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 0.9 y 1.1

En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

11. LIMITACIONES

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

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

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

Triglicéridos (n=2)

PCR (n=2)

RF (n=2)

Bilirrubina (n=1)

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

13. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 104 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	69	3	72
	-	1	31	32
	Total	70	34	104

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

98.6% CI_{95%}: 92.3 – 99.8

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):

91.2% CI_{95%}: 77.0 – 97.0

14. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

PRECISION INTRA-ENSAYO

Lote	No. replicados	Media Index	D.S.	CV%
617-S	16	1.6	0.13	8.1
618-S	16	1.5	0.16	10.7
619-S	16	1.5	0.14	9.3

PRECISION ENTRE ENSAYOS

		Media Index			Media	D.S	CV%
		Día 1	Día 2	Día 3			
617-S	Std 1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.00	-
	Std 2	1.0	1.1	0.9	1.0	0.10	10.0
	Std 3	1.6	2.0	1.8	1.8	0.20	11.1
618-S	Std 1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.06	20.0
	Std 2	1.0	1.1	1.1	1.1	0.06	5.5
	Std 3	1.7	2.2	1.9	1.9	0.25	13.2
619-S	Std 1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.06	30.0*
	Std 2	0.9	0.9	1.1	1.0	0.12	12.0
	Std 3	1.7	1.7	1.9	1.8	0.12	6.7

* Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los cambios (aunque muy pequeño) cuando el valor promedio es acerca de 0.

15. BIBLIOGRAFÍA

1. K. Krasinski. 1985. Severe respiratory syncytial virus infection: clinical features, nosocomial acquisition and outcome. *Pediatr. Infect. Dis.* 4: 250-257.
2. W.V. La Via, M.I. Marks, H.R. Stutman. 1992 Respiratory syncytial virus puzzle: clinical features, pathophysiology, treatment and prevention. *J. Pediatr.* 121: 503-510.
3. C.B.Hall, R.G. Douglas, J.M. Geiman. 1976. Respiratory syncytial virus infection in infants: quantitation and duration of shedding. *J. Pediatr.* 89:11-15.
4. T.M. De Sierra, M. Kumar, E.T. Wasser, R.B. Murphy, E.K. Subbarao. 1993. Respiratory syncytial virus-specific immunoglobulins in preterm infants. *J. Pediatr.* 122: 787-791.
5. B.R. Murphy, D.W. Alling, M.H. Snyder, E.E. Walsh. 1986. Effect of age and preexisting antibody on serum antibody response of infants and children to the F and G glycoproteins during respiratory syncytial virus infection. *J. Clin. Microb.* 24 : 894-898.
6. L.J. Anderson, J.C. Hierholzer, C. Tsou. 1985. Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.* 151 : 626-632
7. H.B. Gimenez, P. Cash, T. Melvin. 1984. Monoclonal antibodies to human respiratory syncytial virus and their use in comparison of different virus isolates. *J. Gen. Virol.* 65 :963-971.
8. M.A. Mufson, C. Orwell, B. Rafner. 1985. Two distinct subtype of human respiratory virus. *J. Gen. Virol.* 66 :2111-2114

9. P.R. Johnson, P.L. Collins. 1990. Sequence comparison of the phosphoprotein mRNAs of antigenic subgroups A and B of human respiratory syncytial virus identifies a highly divergent domain in the predicted protein. *J. Gen. Virol.* 71 :481-485.
10. W.P. Glezen, F.W. Denny F.W. 1973. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N. Engl.J. Med.* 288 :498-50
11. C.B. Hall, E.E. Walsh, K.C. Schnabel. 1990. The occurrence of group A and B of respiratory syncytial virus over 15 years : the associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized And ambulatory children. *J. infect. Dis.* 162 : 1283 :1290
12. K.M. Mc Connochie, C.B. Hall, E.E. Walsh. 1990. Variation in severity of respiratory syncytial virus infection with subtype. *J. Pediatr.* 117 :52-62.
13. M.J. Meddens, P. Herbrink, J. Lindeman, W.C. van Dijk. 1990. Serodiagnosis of respiratory syncytial virus (RSV) infection in children as measured by detection of RSV-specific immunoglobulins G, M and A with enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 28(1):152-5



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



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