CHORUS

INFLUENZA B IgG

REF **81193**

REF **81193/12**

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

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

CE

Rif. IO-09/239-C IFU 81193 – 81193/12 – Ed. 23.01.2019

ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti *Influenza B* nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

CHORUS
INFLUENZA B IgG

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti *Influenza B*

Solo per uso diagnostico *in vitro*

2. INTRODUZIONE

I virus influenzali sono classificati in tipo A, B e C sulla base delle differenze antigeniche. Solo i tipi A e B sono percepiti come clinicamente rilevanti negli esseri umani.
Infezioni da virus influenzale sono gli agenti causali di epidemie ricorrenti di malattie respiratorie acute nell'uomo. In particolare, l'influenza è molto contagiosa, in grado di diffondersi facilmente e responsabile ogni anno di una notevole mortalità. Anziani e persone immunodepresse sono particolarmente a rischio di sviluppare malattie gravi e complicazioni.
Durante le epidemie, i virus dell'influenza possono causare 10.000-20.000 morti tra anziani e pazienti con malattie croniche cardiovascolari e polmonari.
I sintomi clinici di influenza sono molto simili a quelli associati con altri virus respiratori. La risposta immunitaria alle infezioni da virus influenzale è soggetta alla precedente esposizione dell'ospite ad antigeni influenzali. Anticorpi sierici appaiono nella 2° settimana dopo l'insorgenza della malattia, raggiungendo i massimi valori in 4 settimane, persistendo poi, per mesi o anni prima di una graduale riduzione
La diagnosi sierologica di infezione acuta da virus influenzale è basata sulla rilevazione di un aumento di quattro volte o più del titolo IgG tra campioni prelevati in fase acuta e in quella di convalescenza. Pertanto, è necessaria la doppia raccolta di campioni a distanza di circa 2 settimane l'una dall'altra. Anche se la diagnosi sierologica tramite determinazione delle IgG è da ritenersi retroattiva e quindi di scarsa utilità, in molte situazioni cliniche si è resa utile sia per la rilevazione di focolai di influenza, sia per la valutazione dell'efficacia di vaccini e di specifiche terapie antivirali.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).
L'antigene Influenza B viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgG umane coniugate con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.
Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus. Il risultato è espresso in Index - rapporto tra il valore in OD del campione e quello del Cut-Off.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
4. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
   a) Il coniugato ed i controlli contengono fenolo
   b) Il substrato è acido
   Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il

sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

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

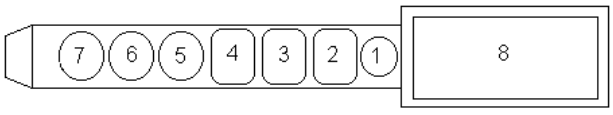
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, o campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
12. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
13. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81193).
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81193/12).

DD DISPOSITIVI
6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81193).
2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81193/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre
Posizione 7: Vuota
Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA
Sensibilizzato con antigene di *Influenza B*
Posizione 5: POZZETTO
Non sensibilizzato
Posizione 4: SUBSTRATO TMB
Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H_2O_2 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)
Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI
Contenuto: Soluzione proteica, contenente fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% ed un indicatore per rivelare la presenza di siero
Posizione 2: CONIUGATO
Contenuto: anticorpi monoclonali anti 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-Influenza B e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO **1 x 0.425 mL**
Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgG anti-Influenza B 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
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel manuale d'uso dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.
Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus fornisce un risultato qualitativo in Index (rapporto tra il valore in OD del campione e quello del cut-off memorizzato dallo strumento).

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

POSITIVO quando l'Index è > 1.1
NEGATIVO quando l'Index < 0.9
DUBBIO/EQUIVOCO: Index compreso tra 0.9 e 1.1

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Il test non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica. Un risultato negativo non preclude la eventualità di un'infezione.
Sieri prelevati durante la fase acuta dell'infezione potrebbero risultare negativi con questa tecnica perché la sieroconversione può richiedere settimane (3-4) dall'infezione per manifestarsi. In tal caso e anche in caso di positività delle IgG, si si raccomanda un test per IgM e IgA o l'analisi di un secondo campione prelevato 8-14 giorni più tardi, per verificare un eventuale aumento delle IgG. Il risultato del test deve essere comunque valutato insieme ai dati clinici e da altre procedure diagnostiche.
Nei neonati, la positività delle IgG deve essere interpretata con prudenza in quanto le IgG materne possono passare passivamente dalla madre al feto.

Interpretazione sierologica		
IgG	IgA/IgM	Significato diagnostico
+	-	Infezione pregressa
-	+	infezione in corso o di recente acquisizione; è consigliato un prelievo nelle successive 1-2 settimane per evidenziare la sieroconversione delle IgG
+	+	infezione di probabile recente acquisizione; la positività delle IgM ed IgA specifiche può persistere per un peridodo di tempo significativo

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 2 campioni negativi a quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide
Bilirubina (5 mg/dl – 30mg/dl)
Trigliceridi (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Emoglobina (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

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

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione, sono stati analizzati 179 campioni sia con il kit Diesse sia con altro kit del commercio.
Di seguito sono schematizzati i risultati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	**-**	**Totale**
Diesse	**+**	162	1	163
	-	0	16	16
	Totale	162	17	179

Sensibilità Diagnostica: 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Specificità Diagnostica: 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. PRECISIONE

PRECISIONE ALL'INTERNO DELLA SEDUTA

Campione	No. replicati	Media	D.S.	CV%
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

PRECISIONE TRA SEDUTE

	Media Index			Media	D.S.	CV%
Campione	**Gior 1**	**Gior 2**	**Gior 3**			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

*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. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI

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

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

CE

INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. INTENDED USE

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

CHORUS
INFLUENZA B IgG
For the Qualitative Determination of IgG Antibodies to *Influenza B*

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

2. INTRODUCTION

Influenza viruses are categorized in type A, B, and C on the basis of the antigenic differences of their nucleoprotein (NP) and matrix (M1) proteins. Only type A and B are perceived to be clinically relevant in humans.

Influenza virus infections are the causal agents of recurrent epidemic of acute respiratory diseases in humans. In particular, influenza is highly contagious, can spread easily and is responsible for a considerable morbidity and mortality each year. Elderly and compromised individuals are especially at risk of developing severe illness and complications.

During epidemics influenza viruses can cause 10.000-20.000 deaths in the elderly and in patients with chronic cardiovascular and pulmonary diseases.

The clinical symptoms of influenza are very similar to those associated with other respiratory viruses, often circulating in the community at the same time. The immune response to influenza virus infection is influenced by the previous exposure history of the host to the influenza antigens. Serum antibodies appear in the 2nd week after the onset of the illness, reach peak titers by 4 weeks, and persist for months to years before gradually declining.

Serological diagnosis of acute influenza infection is based upon the detection a fourfold or greater increase in the IgG titer between the acute-phase and the convalescent-phase sera. Thus, it requires collections of paired serum samples at a distance of about 2 weeks between the first and the second collection. Although a serological diagnosis through the detection of IgG is retrospective and therefore of limited usefulness in many clinical situations, it is considered essential for surveying influenza outbreaks, for assessing the efficacy of vaccines and specific antiviral therapies.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The test is based on the ELISA principle (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

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

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

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

The results are expressed in Index – ratio between OD value of the test sample and that of the Cut-Off.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

   If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.
3. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1.0%. A 30 minutes exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
4. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to

clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

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

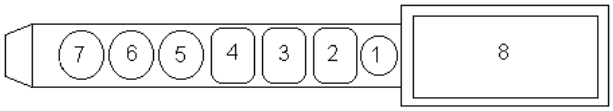
1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
5. Check that the Chorus instrument is set up correctly (see Chorus Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument and do not use devices with defective labels.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed samples or samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
12. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
13. Do not use the device after the expiry date.

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81193).
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81193/12).

DD DEVICES
6 packages each containing 6 devices (REF 81193).
2 packages each containing 6 devices (REF 81193/12).

Description of device:



Position 8: Space for application of bar code label
Position 7: Empty
Position 6: MICROPLATE WELL
Coated with *Influenza B* antigen
Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL
Position 4: TMB SUBSTRATE
Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H_2O_2 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)
Position 3: SAMPLE DILUENT
Contents: Proteic solution containing phenol 0.05%, Bronidox 0.02% and an indicator to reveal the presence of the serum
Position 2: CONJUGATE
Contents: monoclonal antibodies anti-human IgG labelled with peroxidase in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%
Position 1: EMPTY WELL
In which the operator must place the undiluted serum

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

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.175 mL**
Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Influenza B and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL **1 x 0.425 mL**
Contents: Diluted human serum containing IgG antibodies anti-Influenza B 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
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at –20°C and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.
Strongly lipemic, icteric, hemolyzed or contaminated samples cannot be used. The test cannot be applied to plasma.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions, points 1 and 8.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

The test serum can be interpreted as follows:

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

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

11. LIMITATIONS

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

Serological Interpretation		
IgG	IgA/IgM	Diagnostic significance
+	-	Previous infection
-	+	Recent or current infection; a new collection after 1-2 weeks is recommended in order to highlight the IgG seroconversion
+	+	Possible recent infection The positivity of specific IgM and IgA can persist for a significant period

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

2 negative serum samples were spiked with the following interfering factors:

Rheumatoid Factor
Bilirubin (5 mg/dl – 30mg/dl)
Triglycerides (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Hemoglobin (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

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

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

In an experimentation, 179 samples were analyzed with the Diesse kit as well as with another commercial method. Below are the schematized results of the trial:

		Reference		
		+	**-**	**Total**
Diesse	**+**	162	1	163
	-	0	16	16
	Total	162	17	179

Diagnostic Sensitivity: 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Diagnostic Specificity: 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. PRECISION

WITHIN-RUN PRECISION

Sample	**No. of replicates**	**Mean**	**SD**	**CV%**
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

BETWEEN-RUNS PRECISION

	Mean Index			**Mean**	**SD**	**CV%**
Sample	**Day 1**	**Day 2**	**Day 3**			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0

IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

* 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. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. “Laboratory Diagnosis of viral infections” Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. GLOSSARY OF LABELING SYMBOLS

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

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

CE

NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda sloužící ke kvantitativnímu stanovení protilátek třídy IgG proti *Influenza B viru* v lidském séru, za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus a Chorus TRIO.

CHORUS
INFLUENZA B IgG
Kvantitativní stanovení IgG protilátek proti *Influenza B*

Určeno pouze pro *in vitro* diagnostiku

2. ÚVOD

Influenza viry se klasifikují jako typ A, B a C na základě antigenových rozdílů jejich nukleoproteinu (NP) a matricových proteinů (M1). Za klinicky relevantní u člověka považujeme pouze typy A a B.

Infekce influenza virem jsou kauzálním agens opakujících se epidemií akutních respiračních onemocnění u člověka. Influenza je vysoce nakažlivá, snadno se šíří a je každoročně zodpovědná za značnou nemocnost a velký počet úmrtí. Zvláště rizikoví jsou starší lidé a oslabení jedinci, u kterých se může rozvinout vážné onemocnění a komplikace.

V průběhu epidemie mohou viry influenzy způsobit 10 000–20 000 úmrtí starších lidí a pacientů s chronickými kardiovaskulárními a plicními onemocněními.

Klinické symptomy influenzy se velmi podobají příznakům spojeným s jinými respiračními viry, které v dané komunitě často současně cirkulují. Imunitní odezva na influenza virus je ovlivněna tím, zda již byl hostitel v minulosti vystaven influenzovým antigenům. Sérové protilátky se objevují 2. týden po nástupu onemocnění, vrchol titru následuje kolem 4. týdne a persistuje měsíce až roky, než postupně klesne.

Serologická diagnóza akutní influenzové infekce je založena na detekci čtyřnásobného nebo většího nárůstu IgG titru mezi sérem z akutní fáze a sérem z rekonvalescenční fáze. Vyžaduje tak sběr dvojic vzorků séra v intervalu asi 2 týdnů mezi prvním a druhým sběrem. Ačkoliv je serologická diagnóza založená na detekci IgG zpětná, a má proto omezenou využitelnost v mnoha klinických situacích, považuje se za nezbytný krok při sledování propuknutí infekcí influenzy a posouzení účinnosti vakcín a specifické antivirové léčby.

3. PRINCIP ZKOUŠKY

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

Antigen influenzy B se naváže na pevnou fázi. Prostřednictvím inkubace s naředěným lidským sérem se na antigen naváží imunoglobuliny.

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

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagencie nutné k provedení testu pomocí zařízení Chorus. Výsledky jsou vyjádřeny indexem – poměr mezi hodnotou OD testovaného vzorku a 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 přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

5. Nepipetujte ústy.
6. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
7. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS si důkladně umyjte ruce.
8. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých látek:
   c) Konjugát obsahuje fenol.
   d) Substrát obsahuje kyselinu.

   Přijde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
9. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1.0%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
10. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1,0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s

obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevkládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu
Než nástroje použijete, nechejte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) a použijte je do 60 min.

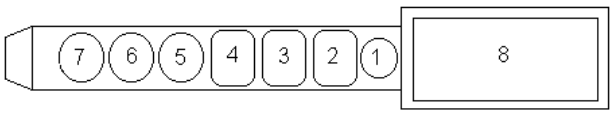
1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagencie a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagencie, nepoužívejte.
4. Nástroje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

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 81193).
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 81193/12).

DD NÁSTROJE
6 balení po 6 nástrojích (REF 81193).
2 balení po 6 nástrojích (REF 81193/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Místo pro štítek s čárovým kódem
Pozice 7: Prázdná
Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA
potažená antigenem *Influenza B*
Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA
Pozice 4: TMB SUBSTRÁT
Obsah: Tetrametylbenzidin 0.26 mg/ml a 0.01% H_2O_2 stabilizovaný v 0.05 mol/l citrátovém pufru (pH 3.8)
Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ
Obsah: Bílkovinný roztok obsahující fenol 0.05%, Bronidox 0.02% a indikátor přítomnosti séra
Pozice 2: KONJUGÁT
Obsah: peroxidázou značené monoklonální protilátky proti lidským IgG ve fosfátovém pufru obsahujícím fenol 0.05% a Bronidox 0.02%
Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA
do níž obsluha umístí neředěné sérum

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR **1 x 0.175 mL**
Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti *Influenza B* a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA **1 x 0.425 mL**
Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující protilátky IgG proti *Influenza B* 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.
- 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

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9, Validace testu).

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Vzorek se skládá ze séra získaného běžným způsobem ze žíly, který byl ošetřen v souladu se všemi opatřeními předepsanými v rámci správné laboratorní praxe. Čerstvé sérum je možné skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C nebo zmrazit na delší období na teplotu -20 °C; rozmrazit se smí maximálně 3krát. Vzorky neskladujte v samorozmrazovacích mrazácích. Rozmrazené vzorky je třeba před použitím opatrně protřepat. Mikrobiální kontaminace může vážně poškodit kvalitu vzorku a vede k chybným výsledkům.
Nesmějí se používat silně lipemické, ikterické, hemolyzované ani kontaminované vzorky.
Test není možné aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

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

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus vyjadřuje výsledek jako INDEX (poměr mezi OD hodnotou vzorku a cut-off hodnotou).

Testované sérum se interpretuje takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.1
NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.9
SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.9 a 1.1

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

11. OMEZENÍ

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

U novorozenců je nutné výsledky pozitivní na IgG interpretovat opatrně, protože protilátky třídy IgG se mohou přenášet z matky na plod.

Serologická interpretace		
IgG	IgA/IgM	Diagnostický význam
+	-	Předchozí infekce.
-	+	Nedávná nebo probíhající infekce. Doporučujeme nový sběr po 1–2 týdnech pro zvýraznění sérokonverze.
+	+	Možná nedávná infekce. Pozitivita specifických IgM a IgA může přetrvávat dlouhou dobu.

12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Dva vzorky sér byly ošetřeny následujícími rušivými faktory:

Revmatický faktor
Bilirubin (5 mg/dl–30 mg/dl)
Triglyceridy (1 mg/ml–30 mg/ml)
Hemoglobin (1.2 mg/ml–10 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek v séru nijak výsledky testu neovlivnila.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

V rámci pokusu bylo analyzováno 179 vzorků touto Diesse soupravou a další komerční metodou. Níže jsou shrnuty výsledky tohoto pokusu:

		Reference		
		+	**-**	**Celkem**
Diesse	**+**	162	1	163
	-	0	16	16
	Celkem	162	17	179

Diagnostická citlivost: 100.0% $CI_{95\%}$: 97.7–100.0.
Diagnostic specifičnost: 94.1% $CI_{95\%}$: 73.0–98.9.

14. PŘESNOST

PŘESNOST V RÁMCI MĚŘENÍ

Vzorek	**Počet replikátů**	**Průměr**	**Stand. odchylka**	**CV %**
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

PŘESNOST MEZI MĚŘENÍMI

	Střední index			Průměr	Stand. odchylka	CV %
Vzorek	**Den 1**	**Den 2**	**Den 3**			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

***** Artefakt způsobený známou chybou variačního koeficientu, který se stává extrémně citlivým i na velmi malé změny průměru, blíží-li se průměrná hodnota nule

15. POUŽITÁ LITERATURA

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. “Laboratory Diagnosis of viral infections” Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. GLOSÁŘ POUŽITÝCH SYMBOLŮ

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

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

CE

GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS INFLUENZA B IgG

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung der Anti-*Influenza B*-IgG-Antikörper im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

CHORUS INFLUENZA B IgG Zur qualitativen Bestimmung der Anti-*Influenza B*–IgG-Antikörper

Ausschließlich für die *In-vitro-Diagnostik* bestimmt

2. EINLEITUNG

Die Influenzaviren werden aufgrund antigener Unterschiede in die Typen A, B und C eingeteilt. Nur die Typen A und B werden als klinisch relevant für den Menschen eingestuft.

Infektionen durch das Influenzavirus sind die Verursacher wiederkehrender Epidemien von akuten Atemwegserkrankungen beim Menschen. Insbesondere ist die Influenza sehr ansteckend, sie verbreitet sich leicht und sie ist alljährlich für eine hohe Mortalität verantwortlich. Ältere und immunschwache Menschen haben ein besonders hohes Risiko, schwere Krankheiten und Komplikationen zu entwickeln.

Im Laufe von Epidemien können die Influenzaviren 10.000–20.000 Tote unter älteren Menschen und Patienten mit chronischen kardiovaskulären und pulmonaren Erkrankungen verursachen.

Die klinischen Symptome der Influenza sind den Symptomen, die mit anderen respiratorischen Viren in Verbindung gebracht werden, sehr ähnlich. Die Immunreaktion auf Infektionen durch das Influenzavirus erfolgt nach vorhergehender Exposition des Wirts gegenüber Influenza-Antigenen. Serische Antikörper erscheinen in der 2. Woche nach Auftreten der Erkrankung und sie erreichen ihre maximalen Werte in 4 Wochen. Sie bleiben danach über Monate oder Jahre erhalten, bevor sie schrittweise weniger werden.

Die serologische Diagnose einer akuten Infektion durch das Influenzavirus basiert auf dem Nachweis eines vier- oder mehrfachen Anstiegs der IgG-Antikörper zwischen Proben, die während der akuten und der Konvaleszenzphase entnommen wurden. Es müssen daher zweimal Proben in einem Abstand von ca. 2 Wochen entnommen werden. Wenn die serologische Diagnose durch Bestimmung der IgG-Antikörper auch als retroaktiv und von geringem Nutzen angesehen wird, hat sie sich in vielen klinischen Situationen als nützlich erwiesen, sowohl für den Nachweis von Influenzaherden, als auch für die Bewertung der Effizienz von Impfungen und spezifischen antiviralen Therapien.

3. TESTPRINZIP

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

Das Influenza B-Antigen wird an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen Anti-human-IgG-Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

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

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus Laboranalysator durchführen zu können. Das Ergebnis ist als Index ausgedrückt - als Verhältnis zwischen dem Wert der OD der Probe und dem des Cut-off.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO-DIAGNOSTIK* BESTIMMT.

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben und während des Tests Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Die Hände nach Beendigung des Tests sorgfältig waschen.
10. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
    c) Das Konjugat und die Kontrollen enthalten Phenol
    d) Das Substrat ist sauer

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

11. 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.
12. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

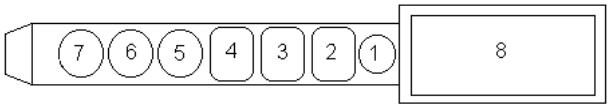
14. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
15. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
16. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
17. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
18. Kontrollieren, ob der Chorus Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
19. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
20. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
21. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
22. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
23. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
24. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
25. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
26. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF 81193).
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF 81193/12).

DD TESTMODULE
6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81193).
2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81193/12).

Beschreibung:



Position 8 : Platz für Strichcode-Etikett
Position 7 : leer
Position 6 : MIKROPLATTENVERTIEFUNG,
die mit dem Antigen von *Influenza B* sensibilisiert wurde
Position 5 : VERTIEFUNG
nicht sensibilisiert
Position 4 : TMB SUBSTRAT
Inhalt: 0.26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01% H_2O_2, stabilisiert in Citratpuffer (0.05 mol/l, pH 3.8)
Position 3 : VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN
Inhalt: Proteinlösung mit 0.05% Phenol, 0.02% Bronidox und einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst
Position 2 : KONJUGAT
Inhalt: Peroxidase-markierte monoklonale Anti-human-IgG-Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0.05% Phenol und 0.02% Bronidox
Position 1 : LEERE VERTIEFUNG
In diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen

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

CALIBRATOR KALIBRATOR **1 x 0.175 mL**
Inhalt: Verdünntes Humanserum mit Anti-*Influenza B*-IgG-Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE **1 x 0.425 mL**
Inhalt: Verdünntes Humanserum mit Anti-*Influenza B*-IgG-Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

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

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird. Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei 20°C eingefroren. Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen. Durch eine mikrobische Kontamination kann die Qualität der Probe stark beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.
Stark lipämische, ikterische oder kontaminierte Proben können nicht verwendet werden.
Der Test ist nicht bei humanem Plasma anwendbar.

8. VORGEHENSWEISE

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

9. TESTVALIDITÄT

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

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus Laboranalysator liefert ein qualitatives Ergebnis als Index (Verhältnis zwischen dem Messwert der OD der Probe und dem Wert des vom Analysator gespeicherten Cut-off).

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

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

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

11. GRENZEN DES TESTS

Der Test darf nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden. Ein negatives Ergebnis schließt die Eventualität einer Infektion nicht aus.
Seren, die während der akuten Phase der Infektion entnommen wurden, könnten mit dieser Technik ein negatives Ergebnis bringen, weil sich die Serokonversion erst Wochen (3–4) Wochen nach der Infektion zeigen kann. In diesem Fall und auch wenn die IgG positiv sind, wird empfohlen, einen Test auf IgM und IgA durchzuführen oder eine 8–14 Tage später entnommene zweite Probe zu analysieren, um zu prüfen, ob die IgG-Antikörper angestiegen sind. Das Testergebnis muss in jedem Fall zusammen mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Verfahren beurteilt werden.
Bei Neugeborenen muss ein positives Ergebnis der IgG-Antikörper mit Vorsicht interpretiert werden, da die mütterlichen IgG passiv von der Mutter auf den Fetus übergehen können.

Serologische Interpretation		
IgG	IgA/IgM	Diagnostische Bedeutung
+	-	Frühere Infektion
-	+	Aktuelle oder kürzlich erworbene Infektion; es wird empfohlen, in den kommenden 1–2 Wochen eine Entnahme vorzunehmen, um die Serokonversion der IgG nachzuweisen
+	+	wahrscheinlich kürzlich erworbene Infektion; die Positivität der spezifischen IgM und IgA kann über lange Zeit bestehen bleiben

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 2 negative Proben getestet, denen folgende Interferenten beigefügt wurden:

Rheumafaktor
Bilirubin (5 mg/dl – 30mg/dl)
Triglyceride (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Hämoglobin (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

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

13. DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Bei einem Versuch wurden 179 Proben sowohl mit dem Testsatz Diesse als auch mit einem im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.
In den folgenden Tabellen sind die Versuchsergebnisse aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	162	1	163
	-	0	16	16
	Insgesamt	162	17	179

Diagnostische Sensivität: 100.0% CI $_{95\ \%}$: 97.7–100.0
Diagnostische Spezifität: 94.1% CI $_{95\ \%}$: 73.0–98.9

14. PRÄZISION

PRÄZISION INNERHALB EINES DURCHLAUFS

Probe	Anz. der Parallelproben	Mittelwert	SD	CV %
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

PRÄZISION ZWISCHEN DURCHLÄUFEN

	Mittelwert Index			Mittelwert	SD	CV %
Probe	Tag 1	Tag 2	Tag 3			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

*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.

15. LITERATUR

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. SYMBOLERKLÄRUNG

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

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

CE

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυματική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG anti *Influenza B* στον ανθρώπινο ορό με διάταξη μιας χρήσης εφαρμοσμένης στα όργανα Chorus και Chorus TRIO.

CHORUS
INFLUENZA B IgG
Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG anti-*Influenza B*

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ιοί της γρίπης ταξινομούνται σε τύπους A, B και C πάνω σε βάση αντιγονικών διαφορών. Μόνο οι τύποι A και B γίνονται αντιληπτοί για να είναι κλινικά σημαντικοί για τους ανθρώπους.

Οι λοιμώξεις από τον ιό της γρίπης είναι οι αιτιολογικοί παράγοντες των επαναλαμβανόμενων επιδημιών οξείας αναπνευστικής νόσου στον άνθρωπο. Ειδικότερα, η γρίπη είναι εξαιρετικά μεταδοτική και μπορεί να εξαπλωθεί εύκολα και ευθύνεται κάθε χρόνο για μια σημαντική θνησιμότητα. Οι ηλικιωμένοι και τα ανοσοκατασταλμένα άτομα παρουσιάζουν ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σοβαρών ασθενειών και επιπλοκών.

Κατά τη διάρκεια επιδημιών, οι ιοί της γρίπης μπορούν να προκαλέσουν 10.000 έως 20.000 θανάτους μεταξύ των ηλικιωμένων και των ασθενών με χρόνιες καρδιαγγειακές και πνευμονικές παθήσεις.

Τα κλινικά συμπτώματα της γρίπης είναι πολύ παρόμοια με εκείνα που συνδέονται με άλλους αναπνευστικούς ιούς. Η ανοσολογική απόκριση στις λοιμώξεις του ιού της γρίπης υπόκειται σε προηγούμενη έκθεση στο αντιγόνο γρίπης του ξενιστή. Τα αντισώματα στον ορό εμφανίζονται τη 2η εβδομάδα μετά την εκδήλωση της νόσου, φθάνοντας σε μέγιστες τιμές σε 4 εβδομάδες, εξακολουθώντας, στη συνέχεια, να υφίστανται για μήνες ή για χρόνια πριν από τη σταδιακή μείωση.

Η ορολογική διάγνωση της οξείας λοίμωξης της γρίπης βασίζεται στην ανίχνευση μιας αύξησης τέσσερις φορές ή περισσότερο των τίτλων IgG μεταξύ των δειγμάτων που έχουν ληφθεί κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης καθώς και αυτής της ανάρρωσης. Ως εκ τούτου, είναι αναγκαίο να διπλασιαστεί η συλλογή των δειγμάτων σε περίοδο περίπου 2 εβδομάδων, το ένα από το άλλο. Αν και η ορολογική διάγνωση από τον προσδιορισμό των τίτλων IgG πιστεύεται ότι είναι αναδρομική και, επομένως, πολύ μικρής αξίας, σε πολλές κλινικές καταστάσεις έχει γίνει χρήσιμη τόσο για τον εντοπισμό των εστιών της γρίπης όσο και για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των εμβολίων καθώς και αυτής της των ειδικών αντι-ιικών θεραπειών.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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

Το αντιγόνο της Γρίπης Β συνδέεται με τη στερεά φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από μονοκλωνικά αντισώματα ανθρώπινης αντι IgG συζευγμένα με υπεροξειδάση χρένου. Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.

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

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε Δείκτη - ο λόγος της τιμής της οπτικής πυκνότητας (OD) του δείγματος ως προς εκείνη της αποκοπής (Cut-Off) **.**

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.
3. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μόλις τελειώσετε το τεστ.
4. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:

a) Το συζυγές και τα αντιδραστήρια ελέγχου περιέχουν φαινόλη
b) Το υπόστρωμα είναι όξινο

Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνατε με άφθονο νερό.

5. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η ζώνη που έχει μολυνθεί θα πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

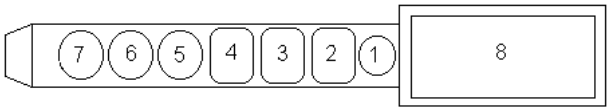
1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήστε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο της.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης του γραμμικού κώδικα να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων.
8. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
10. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ό,τι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
12. Εισάγετε τον ορό που θα αναλυθεί (50 ul) στην κυψελίδα 1 του σετ με σιφώνιο (βλ. εικόνα).
13. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81193).
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81193/12).

DD ΣΕΤ
6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81193).
2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81193/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού
Θέση 7: Κενή
Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ.
Ευαισθητοποιημένη με αντιγόνο *Influenza B (Γρίπης Β)*.
Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ
Μη ευαισθητοποιημένη.
Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB
Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H_2O_2 0,01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0.05 mol/L (pH 3.8)
Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ
Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05%, Bronidox 0.02% και έναν δείκτη που ανιχνεύει την παρουσία ορού.
Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ
Περιεχόμενο: Μονοκλωνικά αντισώματα σεσημασμένα με ανθρώπινη anti IgG με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.
Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ
Όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

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

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ **1 x 0.175 mL**

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που εμπεριέχει αντισώματα IgG anti *Influenza B* και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ **1 x 0.425 mL**
Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρωπίνου ορού που εμπεριέχει αντισώματα IgG anti *Influenza B* και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα είναι ένας ορός που προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους κανονισμούς των εργαστηρίων. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C, ενώ για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους καταψύξτε στους −20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη και πριν να το ρίξετε στην κυψελίδα, ανακινήστε το καλά. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.
Δείγματα με ισχυρή αιμόλυση, με ίκτερο, ή μολυσμένα δεν μπορούνι να χρησιμοποιηθούνι.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ό,τι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.
Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

Το τεστ πάνω στον ορό μπορεί να ερμηνευτεί ως κατωτέρω:

ΘΕΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι > 1.1
ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν ο δείκτης είναι < 0.9
ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ Δείκτης βρίσκεται ανάμεσα στα 0.9 και 1.1

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Το τεστ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από μόνο του για μια κλινική διάγνωση. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την πιθανότητα μόλυνσης.
Οροί που έχουν συλλεχθεί κατά το πρώιμο οξύ στάδιο της λοίμωξης υπάρχει πιθανότητα να δώσουν αρνητικά

αποτελέσματα με αυτή την τεχνική επειδή η ορομετατροπή μπορεί να απαιτήσει εβδομάδες (3-4) από τη μόλυνση για να εκδηλωθεί. Σε μια τέτοια περίπτωση και ακόμη σε περίπτωση θετικών αποτελεσμάτων των IgG, συνιστάται η ανάλυση ενός δευτέρου δείγματος που ελήφθη 8-14 ημέρες αργότερα, για να εξακριβωθεί μια ενδεχόμενη αύξηση των IgG. Το αποτέλεσμα του τεστ πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί μαζί με κλινικά δεδομένα και από άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.
Στα νεογέννητα, τα θετικά αποτελέσματα IgG πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή γιατί οι μητρικές IgG μπορούν να περάσουν από τη μητέρα στο έμβρυο.

Ορολογική ερμηνεία		
IgG	IgA/IgM	Διαγνωστική σημασία:
+	-	Πριν από τη λοίμωξη
-	+	υφιστάμενη ή νεοαποκτηθείσα λοίμώξη. Ενδείκνυται λήψη τις επόμενες 1-2 εβδομάδες για επιβεβαίωση της ορομετατροπής των IgG
+	+	Πιθανώς πρόσφατα αποκτηθείσα λοίμωξη. Τα θετικά αποτελέσματα ειδικά για τις IgM ed IgA μπορούν υφίστανται για μια σημαντική χρονική περίοδο

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ
Ελέγχθηκαν 2 αρνητικά δείγματα ορού στα οποία προστέθηκαν οι επόμενες παρεμβαλλόμενες ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας
Χολερυθρίνη (5 mg/dl – 30mg/dl)
Τριγλυκερίδια (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Αιμοσφαιρίνη (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

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

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ
Σε μια εκτέλεση πειραμάτων, αναλύθηκαν 179 δείγματα είτε με το κιτ Diesse είτε με άλλο κιτ του εμπορίου.
Τα δεδομένα του πειράματος συνοψίζονται κατωτέρω:

		Αναφορά		
		+	**-**	**Σύνολο**
DIESSE	**+**	162	1	163
	-	0	16	16
	Σύνολο	162	17	179

Διαγνωστική Ευαισθησία: 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Διαγνωστική Εκλεκτικότητα: 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ

Δείγμα	**Αριθ. επαναλήψεων**	**Μέση**	**D.S.**	**CV%**
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΘΕΣΕΙΣ

	Μέσος Δείκτης			**Μέση**	**D.S.**	**CV%**
Δείγμα	**Ημερα 1**	**Ημερα 2**	**Ημερα 3**			
IBG-C 1	**0.1**	**0.1**	**0.0**	0.1	0.06	60.0 *
IBG-C 2	**1.2**	**1.3**	**1.2**	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	**3.8**	**3.6**	**3.7**	3.7	0.10	2.7

*Τέχνασμα οφειλόμενο στο γνωστό αποτέλεσμα της διακύμανσης του συντελεστή που καθίσταται εξαιρετικά ευαίσθητος σε αλλαγές (ακόμα και σε πολύ μικρές), όταν η τιμή των μέσων είναι κοντά στο μηδέν.

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. “Laboratory Diagnosis of viral infections” Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

	Ημερομηνία Παραγωγής
	Ημερομηνία λήξης

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

Παρασκευάζεται από:
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Ιταλία

INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. INDICACIONES

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

CHORUS
INFLUENZA B IgG

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti *Influenza B*

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

2. INTRODUCCIÓN

Los virus de la gripe se clasifican en subtipos A, B y C, basados en diferencias antigénicas. Sólo los tipos A y B se consideran de relevancia clínica en seres humanos. Las infecciones por virus de la influenza son los agentes causales a las epidemias recurrentes de enfermedades respiratorias agudas en los seres humanos. En particular, la gripe es muy contagiosa y puede diseminarse fácilmente y cada año es responsable de mortalidad significativa. Ancianos y personas inmunodeprimidas están particularmente en riesgo de desarrollar enfermedades graves y complicaciones. Durante las epidemias, los virus de la gripe pueden causar entre 10.000 y 20.000 muertes entre ancianos y pacientes con enfermedades crónicas cardiacas y pulmonares.

Los síntomas clínicos de la influenza son muy similares a los relacionados con otros virus respiratorios. La respuesta inmune a infecciones por virus de la gripe está sujeta a la exposición previa del huésped a los antígenos de la gripe. Los anticuerpos séricos aparecen en la 2 ª semana después de la aparición de la enfermedad, alcanzando los valores más altos en 4 semanas, y persistiendo por meses o años antes de una reducción gradual.

El diagnóstico serológico de infección aguda por el virus de la influenza se basa en la detección de un aumento de cuatro veces o más de IgG entre las muestras tomadas durante la fase aguda y la de convalecencia. Por lo tanto, es necesario repetir la recogida de muestras a una distancia de aproximadamente 2 semanas. Aunque el diagnóstico serológico por determinación de la IgG se considera retroactivo, y por lo tanto de poco valor, en muchas situaciones clínicas se ha convertido en útil tanto para la detección de brotes de influenza y para evaluar la eficacia de las vacunas y de terapias antivirales específicas.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

El antígeno Influenza B 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 han reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado compuesto de anticuerpos monoclonales anti IgG humanas conjugados con peroxidasa de rábano.

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

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

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus. El resultado se expresa en Index – 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 dieron resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por via oral.
2. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavar las manos a fondo después de terminar la prueba.
4. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
   a) El conjugado y los controles contienen fenol
   b) El substrato es ácido

   Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1,0%. Se requiere una exposición al

hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.

6. El vertido de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

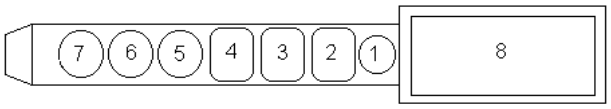
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el hondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado, no utilizar dispositivos en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras colocado en la asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga particulas extrañas.
12. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
13. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81193).
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81193/12).

DD DISPOSITIVOS
6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81193).
2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81193/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras
Posición 7: libre
Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA
Sensibilizado con antígeno de *Influenza B*
Posición 5: POCILLO
No sensibilizado
Posición 4: SUBSTRATO TMB
Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H_2O_2 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)
Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS
Contenido: Solución de proteínas, que contiene fenol al 0.05%, Bronidox al 0.02% y un marcador para indicar la presencia de suero
Posición 2: CONJUGADO
Contenido: anticuerpos monoclonales anti IgG humanas marcados con peroxidasa, en una solución fosfato tamponada que contiene fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%
Posición 1: POCILLO LIBRE
Donde el usuario dispensa el suero sin diluir

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 mL**
Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-*Influenza B* y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 0.425 mL**
Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgG anti-*Influenza B* 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
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4 Precauciones Analíticas puntos 1 y 8.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo, por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus proporciona un resultado cualitativo en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y lo del Cut-Off almacenado en el instrumento).
La prueba puede ser interpretada como sigue:

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

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

11. LIMITACIONES

Este Test no debe ser la unica prueba utilizada par el diagnostico clinico. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.
Sueros recogidos durante la fase aguda de la infección podrían ser negativos con esta técnica ya que la seroconversión puede tardar semanas (3-4) después de la infección. En este caso, y también en caso de positividad de las IgG, se recomienda una prueba para IgM e IgA, u el análisis de una nueva muestra recogida 8/12 días después, para comprobar un eventual aumento de las IgG. El resultado de la prueba debe ser evaluado junto con los datos clinicos y otros procedimientos de diagnóstico.
En los recién nacidos, la positividad de las IgG debe interpretarse con precaución, ya que las IgG maternas pueden pasar pasivamente de la madre al feto.

Interpretación serológica		
IgG	IgA/IgM	Significado de diagnóstico
+	-	Infección pregresa
-	+	Infección actual o recientemente adquirida; se aconseja recogida de muestra en las 1-2 semanas siguientes para observar la seroconversión de las IgG
+	+	Infección actual o recientemente adquirida; la positividad de las IgM e IgA específicas puede persistir durante un período significativo

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 2 muestras negativas a las cuales se añadieron los siguientes interferentes:

Factor Reumatoide
Bilirrubina (5 mg/dl – 30mg/dl)
Triglicéridos (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Hemoglobina (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

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

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba clínica se analizaron 179 muestras con el kit Diesse y con otro método comercial.
Abajo están indicados los resultados de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	162	1	163
	-	0	16	16
	Total	162	17	179

Sensibilidad de Diagnóstico: 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Especificidad de Diagnóstico: 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. REPRODUCIBILIDAD

REPRODUCIBILIDAD INTRA-ENSAYO

Muestra	No. replicados	Media	D.S.	CV%
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

REPRODUCIBILIDAD ENTRE ENSAYOS

	Media Index			Media	D.S.	CV%
Muestra	Día 1	Día 2	Día 3			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

*Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los cambios (aunque muy pequeños) cuando el valor medio es cercano a cero.

15. BIBLIOGRAFÍA

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. “Laboratory Diagnosis of viral infections” Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

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

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

CE

INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps IgG contre la *Grippe B* dans le sérum humain en utilisant un dispositif a usage unique applique aux instruments Chorus et Chorus TRIO.

CHORUS
INFLUENZA B IgG
Pour la détermination qualitative des anticorps IgG contre la *Grippe* B

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

2. INTRODUCTION

Les virus de la grippe sont classés en type A, B et C sur la base des différences antigéniques. Seuls les types A et B sont perçus comme cliniquement importants chez les êtres humains. Les infections dues à des virus de la grippe sont les agents qui provoquent des épidémies récurrentes de maladies respiratoires aigues chez l'homme. En particulier, la grippe est très contagieuse, en mesure de se diffuser facilement et elle est responsable chaque année d'une mortalité importante. Les personnes âgées et les personnes immunodéficientes risquent notamment de développer des maladies graves et des complications.

Durant les épidémies, les virus de la grippe peuvent provoquer 10.000-20.000 morts chez les personnes âgées et les patients atteints de maladies chroniques cardiovasculaires et pulmonaires.

Les symptômes cliniques de la grippe sont similaires à ceux associés à d'autres virus respiratoires. La réponse immunitaire aux infections dues au virus de la grippe est soumise à l'exposition auparavant de l'hôte à des antigènes de la grippe. Des anticorps sériques apparaissent au cours de la deuxième semaine après la survenue de la maladie, atteignant les valeurs maximales en 4 semaines et persistant ensuite, pendant des mois ou des années avant une réduction progressive.

Le diagnostic sérologique d'infection aigüe provoquée par un virus de la grippe et basé sur la détection d'une augmentation de quatre fois ou plus du titre d'IgG dans les échantillons prélevés pendant la phase aigüe et pendant la phase de convalescence- En conséquence, une double collecte d'échantillons à distance d'environ 2 semaines l'une de l'autre est nécessaire. Même si le diagnostic sérologique par la biais de la détermination des IgG doit être retenu comme rétroactif et donc peu utile, dans de nombreuses situations cliniques cette dernière s'est avérée utile tant pour la détection de foyers de grippe, tant pour l'évaluation de l'efficacité des vaccins et de thérapies antivirales spécifiques.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

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

L'antigène de la Grippe B est lié à la phase solide. A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après les lavages permettant d'éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgG humaines conjuguées à la peroxydase de raifort. On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat pour la peroxydase.

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

Les dispositifs à jeter contiennent tous les réactifs pour effectuer le test quand ils sont appliqués aux instruments Chorus. Le résultat est exprimé en Indice – rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour la recherche de HbsAg que pour celles des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Etant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

13. Ne pas pipeter avec la bouche.
14. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et durant l'essai.
15. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
16. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
    a) Le conjugué et les contrôles contiennent du phénol
    b) Le substrat est acide.

    Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, les laver à grande eau.
17. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution

d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.

18. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les réactifs revenir à température ambiante (+18-30°C) et l'utiliser dans les 60 minutes.

27. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
28. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
29. Contrôler la présence des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif.
30. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
31. S'assurer que l'instrument Chorus est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
32. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif à fin que l'instrument puisse le lire correctement.
33. Eviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
34. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
35. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
36. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
37. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
38. Pipeter le sérum en examen (50 µl) dans le puits 1 du dispositif (voir la figure).
39. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.

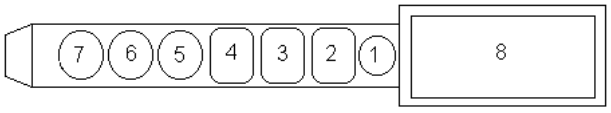
5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 81193).
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81193/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81193).
2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81193/12).

Description:



Position 8 : Place disponible pour l'étiquette avec le code à barres
Position 7 : Vide
Position 6 : PUITS DE LA MICROPLAQUE
Sensibilisé avec antigène de la *Grippe B*
Position 5 : PUITS
Non sensibilisé
Position 4 : SUBSTRAT TMB
Contenu : Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/ml et H_2O_2 à 0,01% stabilisés dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH=3.8)
Position 3 : DILUENT POUR LES ECHANTILLONS
Contenu : Solution protéique contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox et un indicateur pour révéler la présence de sérum
Position 2 : CONJUGUE
Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués à la peroxydase, dans un tampon phosphate contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox
Position 1 : PUITS VIDE
dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisées dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR **1 x 0.175 mL**

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG contre la *Grippe B* et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

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

Contenu: Sérum humain dilué contenant des anticorps IgG contre la *Grippe B* et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.

- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITEÉ DES RÉACTIFS

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

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

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation.

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8°C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8°C
CONTROLE POSITIF	8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

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

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 : « Précautions analytiques » points 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif à analyser ; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

Si le résultat du sérum de contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

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

10. INTERPRÉTATION DU TEST

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

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

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

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

11. LIMITES DU TEST

Le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique. Un résultat négatif n'exclut pas l'éventualité d'une infection.
Avec cette technique, des sérums prélevés durant la phase aigüe de l'infection pourraient résulter négatifs parce que la séroconversion peut exiger des semaines (3-4) à partir du moment l'infection avant de se manifester. Dans ce cas, et aussi en cas de résultat positif des IgG, on recommande un test pour les IgM et IgA ou l'analyse Autrement, on analyse d'un deuxième échantillon prélevé 8-14 jours plus tard, pour vérifier s'il y a eu une augmentation des IgG. Le résultat du test doit toujours être évalué en tenant compte des données cliniques et provenant d'autres procédures diagnostiques.
Chez les nouveau-nés, la positivité des IgG doit être interprétée avec précaution dans la mesure où les IgG maternelles peuvent passer passivement de la mère au foetus.

Interprétation sérologique		
IgG	IgA/IgM	Signification diagnostique
+	**-**	Infection précédente
-	**+**	Infection en cours ou acquise récemment un prélèvement dans 1-2 semaines successives est conseillé pour mettre en évidence la séroconversion Des IgG
+	**+**	Infection probablement acquise récemment

12. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

2 échantillons ont été testés négatifs auxquels ont été ajoutés les interférents suivants:

Facteur Rhumatoïde
Bilirubine (5 mg/dl – 30 mg/dl)
Triglycérides (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Hémoglobine (1.2 mg/dl – 10 mg/dl)

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

13. SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

Au cours d'une expérience, 179 échantillons ont été analysés, avec le kit Diesse et avec un autre kit disponible dans le commerce.

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

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	162	1	163
	-	0	16	16
	Total	162	17	179

Sensibilité Diagnostique : 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Spécificité Diagnostique : 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. PRÉCISION

PRÉCISION DANS LE CADRE DE LA SEANCE

Echantillon	Nombre de répliques	Moyenne	D.S.	CV%
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

PRÉCISION ENTRE LES SEANCES

	Moyenne Indice			Moyenne	D.S.	CV%
Echantillon	Jour 1:	Jour 2:	Jour 3:			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0 *
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

*Artéfact dû à l'effet connu de Variation du Coefficient qui devient extrêmement sensible aux variations (même minimes) quand la valeur moyenne est proche du zéro.

15. BIBLIOGRAPHIE

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. "Laboratory Diagnosis of viral infections" Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. EXPLICATION DES SYMBOLES

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

Fabriqué par
DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (Sienne)
Italie

CE

INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. UTILIZAÇÃO

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

CHORUS
INFLUENZA B IgG
Para a determinação qualitativa dos anticorpos IgG anti *Gripe B*

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

2. INTRODUÇÃO

Os vírus gripais são classificados em tipo A, B e C dependendo das suas diferenças antigénicas. Só os tipos A e B são considerados como clinicamente importantes nos seres humanos.

As infecções por vírus da gripe são os agentes que provocam epidemias periódicas de doenças respiratórias agudas no ser humano. Em particular, a gripe é muito contagiosa, de difusão muito fácil e responsável todos os anos por uma considerável mortalidade. As pessoas idosas e a imunodepressas são particularmente a risco de desenvolver doenças graves e complicações.

Durante as epidemias, os vírus da gripe podem provocar de 10.000 a 20.000 mortos entre idosos e doentes com doenças crónicas cardiovasculares e pulmonares.

Os sintomas clínicos da gripe são muito semelhantes aos associados a outros vírus respiratórios. A resposta imunitária às infecções por vírus da gripe está sujeita à exposição anterior do hóspede a antigénios gripais. Os anticorpos séricos aparecem na 2ª semana após o início da doença, alcançando os valores máximos em 4 semanas, persistindo depois, durante meses ou anos antes de uma redução gradual.

O diagnóstico serológico de infecção aguda por vírus da gripe baseia-se na detecção de um aumento de quatro vezes ou mais do título IgG entre amostras colhidas na fase aguda e na de convalescença. Portanto, é necessária a recolha dupla de amostras em intervalos de cerca de 2 semanas entre as colheitas. Apesar de o diagnóstico serológico ser retroactivo e portanto de pouca utilidade, em muitas situações clínicas tornou-se útil quer para a detecção de focos de gripe, quer para a avaliação da eficácia de vacinas e de terapias antivirais específicas.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

O antigénio de Gripe B é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas especificas ligam-se ao antigénio por meio de uma incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com o conjugado, formado por anticorpos monoclonais anti-IgG humanas, conjugados com peroxidase de rábano. O conjugado não ligado é eliminado e adiciona-se o substrato para a peroxidase.

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

Os dispositivos descartáveis contem todos os reagentes para a realização do teste quando é aplicado nos instrumentos Chorus. O resultado é expresso em Índice - razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Precauções para a segurança individual

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

   Em caso de contacto desses reagentes com os olhos e a pele, lavar abundantemente com água.
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfectados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.

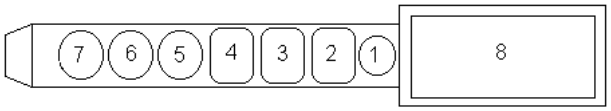
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas
Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem à temperatura ambiente (18 a 30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço verifique se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Controlar a presença dos reagentes nas cavidades do dispositivo e a integridade do dispositivo mesmo; não usar dispositivos que, ao controle visual, faltam alguns reagentes.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
5. Controlar que o instrumento Chorus esteja programado correctamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, permitindo uma correcta leitura pelo equipamento.
7. Evitar o uso de congeladores No Frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento.
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus, verificar que o poço de reacção não contenha corpos estranhos.
12. Pipetar o soro em teste (50 µl) no poŋo 1 do dispositivo (ver a figura).
13. Não usar o dispositivo depois da data de validade.

5. COMPOSIÇÃO DO KIT PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81193).
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81193/12).

DD DISPOSITIVOS
6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81193).
2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81193/12).
Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para o rótulo com o código de barras
Posição 7: Vazia
Posição 6: POÇO DA MICROPLACA
Sensibilizado com antigénio de *Gripe B*
Posição 5: POÇO
Não sensibilizado
Posição 4: SUBSTRATO TMB
Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/ml e H_2O_2 0.01% estabilizados em tampão citrato 0.05 mol/l (pH 3.8)
Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS
Conteúdo: Solução proteica, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para revelar a presença de soro
Posição 2: CONJUGADO
Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgG humanas marcados com peroxidase, em solução tampão fosfato, contendo fenol 0.05% e Bronidox 0.02%
Posição 1: POÇO VAZIO
Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído

Uso: **estabilizar um pacote à temperatura ambiente ,** abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e **fechar** o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 mL**
Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG anti-*Gripe B* e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO **1 x 0.425 mL**
Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgG anti-*Gripe B* e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.
- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Água destilada ou desionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infecciosos

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário refazer a calibração e verificar a exactidão do resultado por meio do soro de controlo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

A amostra é um soro, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório. O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a –20°C. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores No Frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes do teste. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.
Não devem ser utilizadas amostras fortemente lipémicas, ictéricas ou contaminadas.
Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Controlar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas" pontos 1 e 8.
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 50 µl de soro não diluído a testar; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus fornece um resultado qualitativo em índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do cut-off memorizado pelo instrumento).
O teste no soro em exame pode ser assim interpretado:

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

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

O teste por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. Um resultado negativo não significa que não possa existir uma infecção.
Os soros recolhidos durante a fase aguda da infecção poderão dar resultados negativos com esta técnica porque a seroconversão pode requerer semanas (3 a 4) desde a infecção para se manifestarem. Nesse caso e também em caso de resultado positivo das IgG, aconselha-se um teste para IgM e IgA ou o teste de uma segunda amostra colhida 8 a 14 dias mais tarde, para verificar um eventual aumento das IgG. O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados clínicos e com outros procedimentos diagnósticos.
Nos recém-nascidos, o resultado positivo das IgG deve ser interpretado com prudência pois as IgG maternas podem passar passivamente da mãe para o feto.

Interpretação serológica		
IgG	IgA/IgM	Significado diagnóstico
+	-	Infecção precedente
-	+	infecção em progresso ou de aquisição recente; aconselha-se uma colheita nas seguintes 1 a 2 semanas para evidenciar a seroconversão das IgG
+	+	infecção de provável aquisição recente; a positividade das IgM e IgA específicas pode persistir por um período de tempo significativo

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 2 amostras negativas às quais foram adicionadas os seguintes interferentes:

Factor Reumatóide
Bilirrubina (5 mg/dl – 30mg/dl)
Triglicéridos (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Hemoglobina (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

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

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO DIAGNÓSTICO

Numa experimentação, foram testadas 179 amostras quer com o kit Diesse quer com outro kit do mercado.
A seguir estão descritos os resultados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	162	1	163
	-	0	16	16
	Total	162	17	179

Sensibilidade do Diagnóstico: 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Especificidade do Diagnóstico: 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. PRECISÃO

PRECISÃO DURANTE A SESSÃO

Amostra	N. duplicados	Média	D.S.	CV%
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

PRECISÃO ENTRE SESSÕES

	Média Índice			Média	D.S.	CV%
Amostra	Dia 1	Dia 2	Dia 3			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

*Artefacto devido ao conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível a variações mesmo muito pequenas) quando o valor da média está próximo de zero.

15. BIBLIOGRAFIA

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. “Laboratory Diagnosis of viral infections” Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS

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

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

CE

DIESSE

INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS
INFLUENZA B IgG

1. DESTINATIA UTILIZARII

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

CHORUS
INFLUENZA B IgG
Pentru Determinarea Calitativa a Anticorpilor IgG pentru *Influenza B*

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

2. INTRODUCERE

Virusurile Influenza sunt clasificate in tipuri A, B, si C, pe baza diferentelor antigenice ale nucleoproteinelor (NP) lor si a proteinelor matriciale (M1). Numai tipurile A si B sunt percepute ca fiind relevante din punct de vedere clinic in cazul oamenilor.

Infectiile cu virusul Influenza sunt factorii care provoaca epidemiile recurente ale bolilor respiratorii acute in cazul oamenilor. In mod particular, virusul influenza este extrem de contagios, se poate raspandi cu usurinta si este responsabil pentru numeroase imbolnaviri si decese in fiecare an. Persoanele in varsta si cele cu sistem imunitar deficitar sunt in mod special expusi riscului de a dezvolta boli si complicatii grave.

In timpul epidemiilor, virusurile influenza pot provoca un numar de 10.000-20.000 de decese in randul persoanelor in varsta si in cazul pacientilor suferind de boli cronice cardiovasculare si pulmonare.

Simptomele clinice ale virusului influenza sunt foarte asemanatoare cu cele asociate altor virusuri respiratorii, adesea circuland in comunitate in acelasi timp. Raspunsul sistemului imunitar la infectia cu virusul influenza este influentat de catre istoricul expunerilor anterioare al gazdei la antigenele influenza. Anticorpii din ser apar in a doua saptamana dupa instalarea bolii, ating titrele maxime in timp de 4 saptamani, si persista timp de luni pana la ani inainte de a descreste treptat.

Diagnosticarea serologica a infectiei acute cu virusul influenza se bazeaza pe detectia unei cresteri de patru ori sau mai mare a titrului IgG a serului intre faza acuta si faza convalescenta. Astfel, sunt necesare recoltari ale probelor de ser in pereche, la o perioada de aproximativ 2 saptamani intre prima si a doua recoltare. Cu toate ca o diagnosticare serologica prin detectia IgG este retrospectiva si astfel avand o utilitate limitata in multe situatii clinice, este considerata esentiala pentru supravegherea aparitiei virusului influenza, pentru evaluarea vaccinurilor si a terapiilor antivirale specifice.

3. PRINCIPIUL ANALIZEI

Testul se bazeaza pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

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

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

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii necesari pentru efectuarea testului atunci cand acestea sunt utilizate pe instrumentele Chorus.

Rezultatele sunt exprimate drept Indice – raportul dintre valoarea OD a probei de testare si cea a Cut-Off.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

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

   In cazul in care vreunul dintre reactivi intra in contact cu pielea sau cu ochii, spalati zona temeinic cu apa.
3. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala

de cel putin 1.0%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.

4. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1.0% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de precautie analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

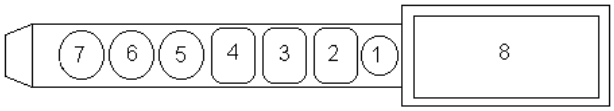
14. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
15. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
16. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv.
17. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
18. Verificati ca instrumentul Chorus sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
19. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect si nu utilizati dispozitive avand etichete deteriorate.
20. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
21. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument.
22. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
23. Utilizarea probelor puternic hemolizate sau a probelor prezentand contaminare microbiana, pot constitui surse de indicare a unei erori.
24. Inainte de a introduce dispozitivele in instrument, verificati ca godeul de reactie sa nu contina corpuri straine.
25. Pipetati serul de testare (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
26. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 81193).
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 81193/12).

DD DISPOZITIVE
6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81193).
2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81193/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea etichetei cu cod de bare
Pozitia 7: Goala
Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII
Captusit cu antigen *Influenza B*
Pozitia 5: GODEU necaptusit al MICROPLACII
Pozitia 4: SUBSTRAT TMB
Continut: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL si H_2O_2 0.01% stabilizate in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)
Pozitia 3: DILUANTUL PROBEI
Continut: Solutie proteica continand fenol 0.05%, Bronidox 0,02% si un indicator pentru evidentierea prezentei serului
Pozitia 2: CONJUGAT
Continut: anticorpi monoclonali IgG anti-umani marcati cu peroxidaza in tampon fosfat continand fenol 0.05% si Bronidox 0.02%
Pozitia 1: GODEU GOL
In care operatorul trebuie sa distribuie serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.175 mL**
Continut: Ser uman diluat continand IgG anticorpi pentru *Influenza B* si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV **1 x 0.425 mL**
Continut: Ser uman diluat continand IgG anticorpi pentru *Influenza B* si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlarie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).
Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA SI PASTRAREA SPECIMENELOR

Proba este compusa din serul recoltat prin metoda obisnuita, din vena, si manevrata respectand toate masurile de precautie dictate de bunele practici de laborator. Serul proaspat poate fi pastrat timp de 4 zile la 2/8°C, sau congelat in vederea pastrarii pentru perioade mai indelungate la –20°C, si poate fi dezghetat de maxim 3 ori. Nu pastrati probele in congelatoare cu sistem de auto-dejivrare. Probele dezghetate trebuie agitate cu atentie inainte de utilizare. Calitatea probei poate fi grav afectata in cazul contaminarii microbiene, care duce la rezultate eronate.
Probele continand o cantitate mare de lipide, puternic icterice, hemolizate sau contaminate nu pot fi utilizate. Testul nu poate fi efectuat in cazul plasmei.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice, punctele 1 si 8.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului Chorus.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca serul de control are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.
Daca rezultatul serului de control continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprima rezultatul ca fiind un INDICE (raportul dintre valoarea OD a probei si aceea a Cut-off).
Rezultatul serului de testare poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: atunci cand raportul este > 1,1
NEGATIV: atunci cand raportul este < 0.9
INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 0.9 si 1.1

In cazul unui rezultat incert/echivoc, repetati testul. Daca rezultatul testului ramane in continuare incert/echivoc, recoltati o noua proba dupa 1-2 saptamani.

11. LIMITARI

Testul nu poate fi utilizat ca unica metoda pentru un diagnostic clinic. Rezultatele negative nu pot exclude o posibila infectie.
Probele de ser recoltate in timpul etapei acute a infectiei pot indica rezultate negative in cazul testarii prin aceasta metoda, deoarece seroconversia poate dura saptamani (3-4) pana la aparitia efectiva. In acest caz, sau in cazul rezultatelor IgG pozitive, se recomanda efectuarea unor teste IgM si IgA si analizarea unei a doua probe obtinute 8-14 zile mai tarziu, pentru a verifica o posibila crestere a numarului anticorpilor de clasa IgG. Cu toate acestea, rezultatele testului trebuie interpretate in relatie cu informatiile disponibile in urma evaluarii clinice si cu cele provenite prin alte proceduri de diagnosticare.
Rezultatele IgG pozitive, in cazul nou-nascutilor, trebuie interpretate cu atentie deoarece anticorpii de clasa IgG pot fi transmisi de la mama la fat.

Interpretarea Serologica		
IgG	IgA/IgM	Semnificatia diagnosticului
+	-	Infectie anterioara
-	+	Infectie recenta sau prezenta; se recomanda o noua recoltare dupa 1-2 saptamani pentru a evidentia seroconversia IgG
+	+	Posibila infectie recenta. Pozitivitatea IgM si IgA specifice, poate persista pentru o perioada indelungata

12. SPECIFICITATEA ANALITICA

Doua probe de ser negativ au fost procesate impreuna cu urmatorii factori interferenti:

Factor Reumatoid
Bilirubina (5 mg/dl – 30mg/dl)
Trigliceride (1 mg/ml – 30 mg/ml)
Hemoglobina (1.2 mg/ml – 10 mg/ml)

Prezenta, in serul de testare, a substantelor interferente mentionate mai sus, nu a modificat rezultatele testului.

13. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

In cadrul unui experiment, un numar de 179 probe au fost analizate cu kitul Diesse, precum si cu alta metoda disponibila pe piata. Mai jos sunt expuse rezultatele experimentului:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	162	1	163
	-	0	16	16
	Total	162	17	179

Sensibilitatea Diagnosticului: 100.0 % $CI_{95\%}$: 97.7 – 100.0
Specificitatea Diagnosticului: 94.1 % $CI_{95\%}$: 73.0 – 98.9

14. PRECIZIA

PRECIZIA IN CADRUL CICLULUI DE RULARE

Proba	Nr. de replicate	Media	SD	CV%
IBG-C 2	15	1.3	0.09	6.9

PRECIZIA INTRE CICLURILE DE RULARE

	Indicele Mediu			Media	SD	CV%
Proba	Ziua 1	Ziua 2	Ziua 3			
IBG-C 1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.06	60.0*
IBG-C 2	1.2	1.3	1.2	1.2	0.06	5.0
IBG-C 3	3.8	3.6	3.7	3.7	0.10	2.7

* Artefact produs de catre eroarea cunoscuta a Coeficientului de Variatie care devine extrem de sensibil chiar si la modificari minore in cadrul mediei, atunci cand valoarea medie este aproape de zero

15. BIBLIOGRAFIE

1. Voeten J.T.M et al. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3527-3531, 1998.
2. Pachucki C.T.. Seminars in Respiratory Infections, 7, 46-53, 1992.
3. Harmon M.W. “Laboratory Diagnosis of viral infections” Ed. Lennette E.H. , Smith T.S., 587-601 , (1999).
4. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
5. R. Ziegalmaier et al.: ELISA. la Ricerca Clin. Lab. 10: 83 (1980)

16. GLOSARUL SIMBOLURILOR DE ETICHETARE

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

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

CE