DIESSE

CHORUS

EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

REF **81059**

REF **81059/12**

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) - Italy

	Capitolo **Section** **Capítulo**
Modifiche introdotte nella revisione corrente **Changes introduced in the current revision** **Cambios introducidos en la revisión actual** **Alterações introduzidas na revisão atual**	**4**

CE

INDICE / INDEX/ ÍNDICE

1. UTILIZZAZIONE / INTENDED USE/ INDICACIONES DE USO / FINALIDADE

2. INTRODUZIONE / SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST / RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST / INTRODUÇÃO

3. PRINCIPIO DEL METODO / PRINCIPLE OF THE TEST / PRINCIPIO DEL MÉTODO / PRINCIPIO DE AÇÃO

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI / COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO / REAGENTES DO KIT E PREPARO

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI / STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS / CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS /CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILDADE

6. PRECAUZIONI / PRECAUTIONS / PRECAUCIONES DE USO / PRECAUÇÕES

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE / TYPE AND STORAGE OF SAMPLE / TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACION / TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

8. PROCEDIMENTO / TEST PROCEDURE /PROCEDIMIENTO / PROCEDIMENTO DO TESTE

9. VALIDAZIONE DEL TEST / TEST VALIDATION / VALIDACIÓN DEL TEST / ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST / INTERPRETATION OF RESULTS / INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS / INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA /LIMITATIONS OF THE PROCEDURE / LIMITACIONES /LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

12. SPECIFICITA' ANALITICA / ANALYTICAL SPECIFICITY / ESPECIFICIDAD ANALÍTICA / ESPECIFICIDADE ANALITICA

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA / DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY/ SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO / SENSIBILIDADE E ESPECIFIDADE CLÍNICA

14. PRECISIONE / PRECISION / REPRODUCIBILIDAD / PRECISÃO

15. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA

ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DEGLI ANTICORPI IgM ANTI EARLY ANTIGEN DEL VIRUS DI EPSTEIN BARR NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS

2. INTRODUZIONE

Gli antigeni precoci ("Early Antigens") del virus di Epstein Barr (EBV-EA) sono proteine virali prodotte precocemente nel corso dell'infezione litica. La determinazione degli anticorpi serici anti-EBV-EA mediante immunofluorescenza indiretta è stata a lungo utilizzata in associazione alla determinazione delle IgG e IgM dirette verso gli antigeni capsidici (VCA) e delle IgG dirette verso un antigene nucleare (EBNA-1) per la diagnosi della mononucleosi infettiva (IM). Recentemente è stato dimostrato che la determinazione mediante metodo immunoenzimatico delle IgG e IgM seriche verso due proteine precoci, la p138 e la p54, correla bene con i metodi di immunofluorescenza indiretta e può essere utilizzata, oltre che come complemento alla determinazione degli anticorpi anti-VCA, anche in sostituzione di questi per la diagnosi di IM.
Il kit per la determinazione con metodo immunoenzimatico delle IgG e IgM anti-EBV-EA impiega polipeptidi ricombinanti prodotti in E. coli contenenti gli epitopi delle proteine p138 e p54.

3. PRINCIPIO DEL METODO

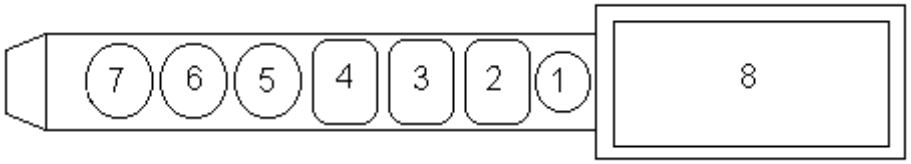
Gli antigeni ricombinanti vengono legati alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgM umane marcati con perossidasi.
Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.
Il colore che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 81059).
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81059/12).

DD DISPOSITIVI
6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81059).
2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81059/12).

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



Descrizione:
Posizione 8: spazio disponibile per etichette con codice a barre
Posizione 7: vuoto
Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA sensibilizzato con proteine ricombinanti degli antigeni precoci di Epstein Barr virus

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA 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% e Bronidox 0.02% e un indicatore per rivelare la presenza di siero
Posizione 2: CONIUGATO
Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgM umane marcati con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%
Posizione 1: POZZETTO VUOTO dove l'utilizzatore deve dispensare il siero indiluito

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.175 mL**
Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO **1 x 0.425 mL**
Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO.
- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Strumento Chorus / Chorus Trio
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl
- Guanti mono-uso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di una errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9 validazione del test).
La data di scadenza è stampata sull'etichetta del dispositivo.

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

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

6. PRECAUZIONI

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

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale
1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS.
2. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
   a) Il coniugato contiene fenolo
   b) Il substrato è acido

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

3. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente ad ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti è normalmente sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

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

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

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

Campioni fortemente lipemici, itterici, emolizzati o inquinati non dovrebbero essere utilizzati.

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prendere il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 6 Avvertenze Analitiche punti 1 e 8.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero indiluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel manuale d'uso dello strumento.

Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal range di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Negativo: quando il risultato è < 0.8
Dubbio/Equivoco: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2
Positivo: quando il risultato è > 1.2

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il risultato del test deve servire unicamente come aiuto nella diagnosi e deve essere comunque valutato insieme a dati provenienti da altre procedure diagnostiche.
Esiste la possibilità di reazioni incrociate con campioni contenenti anticorpi anti-E. coli.
Le caratteristiche della performance non sono state stabilite per una interpretazione visiva. Inoltre non sono state studiate in pazienti affetti da carcinoma nasofaringeo, linfoma di Burkitt nè da altre linfadenopatie associate all'EBV, ad esclusione della mononucleosi correlata all'EBV.
Non può essere utilizzata per la diagnosi un unico parametro. L'interpretazione accurata di un'infezione da EBV si deve basare sui risultati del VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM, oltre agli anticorpi eterofili
Il test va effettuato sul siero. Non è stata stabilita l'applicazione su sangue intero nè su plasma.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

10 campioni negativi agli anticorpi IgM anti-EA contenevano anticorpi IgM contro virus quali CMV, Herpes Simplex e Varicella. In nessun caso la presenza di detti anticorpi interferiva con il kit Enzywell EA IgM.

13. SPECIFICITA' E SENSIBILITA' DIAGNOSTICA

Sono stati analizzati 149 sieri in confronto con un altro metodo immunoenzimatico. Si sono trovati i seguenti risultati: 124 sieri sono risultati negativi e 20 sono risultati positivi su entrambi i kits.

		RIFERIMENTO	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

Il kit ha una specificità del 97% (CI 95%: 92–99) e una sensibilità del 95% (CI 95%: 77–99).

14. PRECISIONE

Tabella 1. Precisione all'interno della seduta

	No. di repliche	**Media Index**	**Dev. St.**	**CV%**
Lotto no. 024	6	3.3	0.25	8
Lotto no. 025	6	3.3	0.31	9
Lotto no. 026	9	2.0	0.13	7

Tabella 2. Precisione tra sedute e tra lotti

Campione	**Media Index**			**Media**	**Dev. St.**	**CV%**
	Lotto 024	**Lotto 025**	**Lotto 026**			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. BIBLIOGRAFIA

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(English)

1. INTENDED USE

QUALITATIVE DETERMINATION OF IgM-CLASS ANTIBODIES TO EPSTEIN BARR EARLY ANTIGEN IN HUMAN SERUM USING A DISPOSABLE DEVICE APPLIED ON THE CHORUS INSTRUMENTS

2. INTRODUCTION

The Epstein Barr Early Antigens (EBV-EA) are viral proteins which are produced in the early stages of lythic infection. In the diagnosis of infectious mononucleosis (IM), indirect immunofluorescence has been adopted for a long time for the determination of serum antibodies against EBV-EA, in association with the detection of IgG and IgM against the capsid antigens (VCA), and IgG against a nuclear antigen (EBNA-1). Recently it has been shown that the immunoenzymatic determination of serum IgG and IgM against the two early proteins, p138 and p54, shows good correlation with the indirect immunofluorescence method and can be utilised, not only as a complementary method in the determination of anti-VCA antibodies, but also as a substitute for these methods in the diagnosis of IM.
The DIESSE Kit for the immunoenzymatic determination of IgG and IgM anti-EBV-EA uses recombinant polypeptides produced in E. coli containing epitopes of the proteins p138 and p54.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

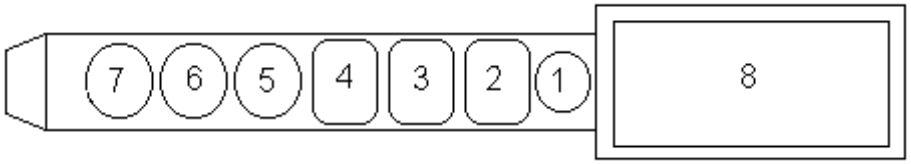
The recombinant antigens are bound to the solid phase. Following incubation with dilute human serum, the specific immunoglobulins are bound to the antigen.
After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation with the conjugate, composed of anti-human IgM monoclonal antibodies labelled with peroxidase, is performed.
The unbound conjugate is eliminated and the peroxidase substrate is added.
The colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.
The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments.

4. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 81059).
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81059/12).

DD DEVICES
6 packages each containing 6 devices (REF 81059).
2 packages each containing 6 devices (REF 81059/12).

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



Description:
Position 8: Space for application of bar code label
Position 7: empty
Position 6: MICROPLATE WELL coated with recombinant proteins of the EBV Early Antigens
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: anti-human IgM monoclonal antibodies labelled with horseradish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%

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

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.175 mL**

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

CONTROL + POSITIVE CONTROL **1 x 0.425 mL**

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

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED.

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

5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the control serum (see point 9, Test validation) .
The expiry date is printed on each component and on the kit label.

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

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

6. PRECAUTIONS

ONLY FOR DIAGNOSTIC USE IN VITRO.

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

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

Health and Safety Information

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

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

3. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1.0%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
4. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical precautions

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

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

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

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

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

The test cannot be applied to plasma.

8. PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

If the result of the control serum continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus instrument expresses the result as an INDEX (ratio between the OD value of the test sample and that of the Cut-Off) which can be used as a quantitative measure, as it is proportional to the amount of specific IgM present.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the ratio is > 1.2

NEGATIVE: when the ratio is < 0.8
DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.8 and 1.2

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 OF THE PROCEDURE

The results obtained can only be used as a guide in the diagnosis and must always be evaluated together with results of other diagnostic procedures.
There is the possibility of cross-reactions with samples containing anti-E. coli antibodies.
Performance characteristics have not been determined for a visual interpretation, nor have they been evaluated in patients affected by nasopharyngeal carcinoma, Burkitt's lymphoma or other lymphadenopathies associated with EBV, apart from EBV-related mononucleosis.
The diagnosis cannot be established on the basis of a single parameter. An accurate interpretation of an EBV infection must be based on the results of VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM results, in addition to heterophyle antibodies.
The test must be performed on serum. The use of blood or plasma has not been established.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

10 samples which were negative for anti-EA IgM, and which also contained IgM against other viruses such as CMV, Herpes Simplex and Varicella, were tested. In no case did the presence of these antibodies interfere with the EA IgM kit.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

149 serum samples were tested in comparison with another immunoenzymatic test. The following results were found: 124 negative samples and 20 positive in both kits.

		REFERENCE KIT	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

The kit shows a specificity of 97% (CI 95%: 92–99) and a sensitivity of 95% (CI 95%: 77–99).

14. PRECISION

Table 1. Within-run precision

	No. of replicates	**Mean Index**	**St. Dev.**	**CV%**
Lot no. 024	6	3.3	0.25	8
Lot no. 025	6	3.3	0.31	9
Lot no. 026	9	2.0	0.13	7

Table 2. Between-run precision and Precision between batches

Sample	**Mean Index**			**Mean**	**St. Dev.**	**CV%**
	Lot 024	**Lot 025**	**Lot 026**			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. REFERENCES

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

1. NÁVOD NA POUŽITÍ

KVALITATIVNÍ STANOVENÍ PROTILÁTEK TŘÍDY IgM PROTI ČASNÉMU ANTIGENU VIRU EPSTEINA A BARROVÉ V LIDSKÉM SÉRU POMOCÍ JEDNORÁZOVÉHO NÁSTROJE APLIKOVANÉHO DO ZAŘÍZENÍ CHORUS.

2. INTRODUCTION

Časné antigeny Epsteina a Barrové (EBV-EA) jsou virové proteiny, produkované v časných stádiích lytické infekce. Již dlouho se při diagnostice infekční mononukleózy (IM) používá metody nepřímé imunofluorescence pro stanovení sérových protilátek proti EBV-EA, a to spolu s detekcí IgG a IgM protilátek proti kapsidovým antigenům (VCA) a IgG proti nukleárnímu antigenu (EBNA-1). V poslední době se ukázalo, že imunoenzymatické stanovení sérových IgG a IgM protilátek proti dvěma časným proteinům, p138 a p54, dobře koreluje s metodou nepřímé imunofluorescence a lze jej použít nejen jako komplementární metody při stanovování anti-VCA protilátek, ale i jako náhrady za tyto metody při diagnostice IM.
Souprava DIESSE pro imunoenzymatické stanovení anti-EBV-EA IgG a IgM protilátek používá rekombinantní polypeptidy produkované v epitopech proteinů p138 a p54 obsahujících E. coli.

3. PRINCIP METHODY

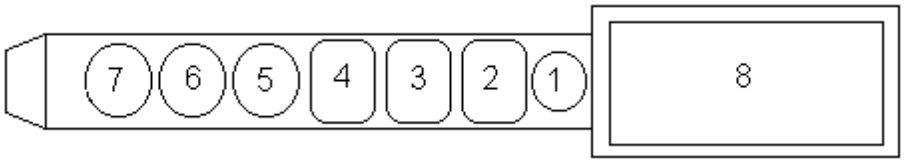
Rekombinantní antigeny jsou navázány na pevné bázi. Inkubací s naředěným lidským sérem se na antigen naváží specifické imunoglobuliny.
Po promytí, při kterém dojde k eliminaci bílkovin, které nereagovaly, se provede inkubace s konjugátem složeným z lidských monoklonálních IgM protilátek značených peroxidázou.
Nyní je nenavázaný konjugát eliminován a přidá se peroxidázový substrát.
Zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.
Jednorázové nástroje obsahují všechny reagencie potřebné pro provedení testu pomocí zařízení Chorus.

4. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 81059).
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 81059/12).

DD NÁSTROJE
6 balení po 6 nástrojích (REF 81059).
2 balení po 6 nástrojích (REF 81059/12).

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



Popis:
Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem
Pozice 7: Prázdná
Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA potažená rekombinantními proteiny EBV časných antigenů
Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA
Pozice 4: TMB SUBSTRÁT
Obsah: Tetrametylbenzidin 0.26 mg/mL a H_2O_2 0.01% stabilizovaný v 0.05 mol/L citrátového 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: Antilidské monoklonální IgM protilátky značené křenovou peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR **1 x 0.175 mL**

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

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM **1 x 0.425 mL**

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

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ.

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

5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2–8°C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9, Potvrzení testu).
Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Po otevření nebo přípravě mají reagencie omezenou stabilitu:

NÁSTROJ	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdny při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM	8 týdny při teplotě 2/8°C

6. UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Pozor:
Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou 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 nástroji obsahujícími materiál lidského původu je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat tak, jak je v tomto případě vyžadováno.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

5. Nepipetujte ústy. Při nakládání se vzorky mějte vždy nasazené jednorázové rukavice a ochranu očí. Po umístění nástrojů do zařízení CHORUS si vždy důkladně umyjte ruce.
6. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých substancí:
   c) konjugát obsahuje fenol,
   d) substrát je kyselina.

   Přijde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
7. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1.0%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.

8. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1.0% 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. Materiály 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 proto, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
8. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
9. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
10. Než do zařízení nástroje vložíte, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
11. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
12. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.

7. TYP A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Vzorek se skládá ze séra získaného běžným způsobem ze žíly, který byl ošetřen v souladu se všemi opatřeními předepsanými v rámci správné laboratorní praxe. Čerstvé sérum je možné skladovat 4 dny při teplotě 2–8°C nebo zmrazit na delší období na teplotu -20 °C; rozmrazit se smí maximálně 3krát. Rozmrazené vzorky je třeba před použitím opatrně protřepat. Mikrobiální kontaminace může vážně poškodit kvalitu vzorku a 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, jej opět uzavřete.
2. Podle instrukcí pod body 1 a 8 uvedenými v Opatřeních 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 na obsluhu zařízení Chorus.

9. POTVRZENÍ TESTU

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

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.2
NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.8
SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.8 a 1.2

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Je-li test i nadále sporný/nejednoznačný, seberte nový vzorek nejméně za 1 až 2 týdny.

11. OMEZENÍ PROCEDURY

Získané výsledky lze při diagnóze používat pouze jako vodítka a je třeba je vždy hodnotit spolu s výsledky ostatních diagnostických procedur.
Existuje možnost zkřížené reakce se vzorky obsahujícími protilátky proti E. coli.
S výjimkou EBV asociované mononukleózy nebyla charakteristika výkonu této procedury stanovena pro vizuální interpretaci, ani nebyla zkoumána, a to u pacientů postižených nazofaryngálním karcinomem, Burkittovým lymfomem ani jinou lymfadenopatií asociovanou s EBV.
Diagnózu nelze stanovit na základě jediného parametru. Přesná interpretace EBV infekce musí být založena nejen na heterofilních protilátkách, ale i na výsledcích VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG a EA IgM.
Test je třeba provádět na séru, použití na krev nebo plazmu nebylo stanoveno.

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Bylo testováno 10 vzorků negativních na anti-EA IgM a obsahujících IgM proti jiným virům jako CMV, Herpes Simplex a Varicella. V žádném z případů neinterferovala přítomnost těchto protilátek se soupravou EA IgM.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFICITA

Bylo testováno 149 vzorků sér a srovnáno s výsledky jiného imunoenzymatického testu. Byly zjištěny následující výsledky: 124 negativních a 20 pozitivních vzorků u obou souprav.

		REFERENČNÍ SOUPRAVA	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

Souprava vykazuje 97% specificitu (CI 95 %: 92–99) a citlivost 95 % (CI 95 %: 77–99).

14. PŘESNOST

Tabulka 1. Přesnost v rámci měření

	Počet replikátů	**Střední index**	**Stand. odchylka**	**CV %**
Šarže č. 024	6	3.3	0.25	8
Šarže č. 025	6	3.3	0.31	9
Šarže č. 026	9	2.0	0.13	7

Tabulka 2. Přesnost mezi měřeními a přesnost mezi šaržemi

Vzorek	**Střední index**			**Průměr**	**Stand. odchylka**	**CV %**
	Šarže 024	**Šarže 025**	**Šarže 026**			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. POUŽITÁ LITERATURA

5. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
6. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
7. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
8. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Deutsch)

1. VERWENDUNGSZWECK

QUALITATIVE BESTIMMUNG DER IgM-ANTIKÖRPER GEGEN DAS ANTI-EARLY-ANTIGEN DES EPSTEIN-BARR-VIRUS IM HUMANSERUM MIT EINEM EINWEG-TESTMODUL, DAS IN KOMBINATION MIT CHORUS LABORANALYSATOREN VERWENDET WIRD.

2. EINLEITUNG

Die Frühantigene („Early Antigens") des Epstein- Barr-Virus (EBV-EA) sind virale Proteine, die frühzeitig im Laufe der lytischen Infektion gebildet werden. Die Bestimmung der Anti-EBV-EA-Antikörper im Serum mittels indirekter Immunfluoreszenz wurde lange Zeit zusammen mit der Bestimmung der direkten IgG- und IgM-Antikörper gegen capside Antigene (VCA) und der direkten IgG-Antikörper gegen ein nukleäres Antigen (EBNA-1) für die Diagnose der infektiösen Mononukleose (IM) eingesetzt. Kürzlich wurde gezeigt, dass die Bestimmung der IgG- und IgM-Antikörper im Serum gegen zwei Frühproteine (p138 und p54) mit Hilfe des Enzymimmunassay-Verfahrens gut mit den Methoden der indirekten Immunfluoreszenz in Beziehung zu bringen ist und außer als Ergänzung für die Bestimmung der Anti-VCA-Antikörper auch als Ersatz dafür für die Diagnose von IM herangezogen werden kann.
Der Testsatz für die Bestimmung der Anti-EBV-EA-IgG- und IgM-Antikörper mit Hilfe des Enzymimmunassay-Verfahrens setzt in E. coli gewonnene rekombinante Polypeptide ein, die die Epitope der Proteine p138 und p54 enthalten.

3. TESTPRINZIP

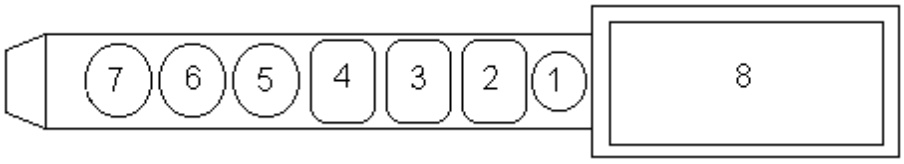
Die rekombinanten Antigene werden an die Festphase gebunden. Durch die Inkubation mit verdünntem Humanserum binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Peroxidase-markierten monoklonalen Anti-human-IgM-Antikörpern.
Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.
Die Intensität der Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.
Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus Laboranalysator durchführen zu können.

4. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF 81059).
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF 81059/12).

DD TESTMODULE
6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81059).
2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81059/12).

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



Beschreibung:
Position 8: Platz für Strichcode-Etikett
Position 7: leer
Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG (Reaktionsvertiefung), die mit rekombinanten Proteinen der Frühantigene des Epstein-Barr-Virus sensibilisiert wurde
Position 5: nicht sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG
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 das Vorhandensein von Serum erfasst.
Position 2: KONJUGAT
Inhalt: peroxidase-markierte monoklonale Anti-human-IgM Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0.05% Phenol und 0.02% Bronidox
Position 1: LEERE VERTIEFUNG, in die der Bediener das unverdünnte Serum füllt

CALIBRATOR KALIBRATOR **1 x 0.175 mL**
Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig

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

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

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

5. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT. BEI 2–8°C AUFBEWAHREN
Achtung:
Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit FDA zugelassenen Methoden sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
2. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
   c) Das Konjugat enthält Phenol
   d) Das Substrat ist sauer

   Wenn ein Reagenz mit der Haut oder mit den Augen in Berührung kommt, diese mit reichlich Wasser spülen.
3. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit ist normalerweise für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichend.
4. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit gereinigt werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Reinigung von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

1. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind, ob sie sich an der richtigen Stelle befinden und ob das Testmodul unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
5. Kontrollieren, ob der Chorus Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann. Keine Testmodule mit beschädigten Etiketten verwenden. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
7. Die Testmodule während der Aufbewahrung keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
8. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
9. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
10. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

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

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 6 Warnhinweise zur Analyse, Punkte 1 und 8, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu untersuchenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

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

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

10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

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

Negativ: bei Ergebnis <0.8
Grauzone/Mehrdeutig: bei Ergebnis zwischen 0.8 und 1.2
Positiv: bei Ergebnis >1.2

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 VERFAHRENS

Das Testergebnis darf ausschließlich als Hilfe für die Diagnose dienen und muss in jedem Fall zusammen mit den Daten anderer diagnostischer Verfahren beurteilt werden.
Es besteht die Möglichkeit von Kreuzreaktionen bei Proben, die Anti-E. coli-Antikörper enthalten.
Die Performance-Eigenschaften für eine visuelle Interpretation wurden nicht festgelegt. Weiters wurden sie nicht bei Patienten mit Nasopharnyxkarzinom, Burkitt-Lymphom oder anderen mit dem EBV in Zusammenhang stehenden Lymphadenopathien untersucht. Einzige Ausnahme ist die durch das EBV ausgelöste Mononukleose.
Für die Diagnose darf nicht ein einziger Parameter herangezogen werden. Die sorgfältige Interpretation einer EBV-Infektion muss auf den Ergebnissen der Bestimmung der VCA-IgG, VCA-IgM, EBNA-IgG, EA-IgG und EA-IgM, sowie anderer heterophiler Antikörper erfolgen.
Der Test wird am Serum durchgeführt. Die Anwendung am Vollblut oder Serum ist nicht vorgesehen.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

10 gegen Anti-EA-IgM-Antikörper negative Proben enthielten IgM-Antikörper gegen Viren wie CMV, Herpes-simplex und Varizella. In keinem Fall führte die Präsenz dieser Antikörper zu Interferenzen beim Testsatz Enzywell EA IgM.

13. DIAGNOSTISCHE SPEZIFITÄT UND SENSIVITÄT

Es wurden 149 Seren im Vergleich mit einem anderen Enzymimmunassay-Verfahren analysiert. Die Analyse brachte folgende Ergebnisse: 124 Seren waren negativ und 20 waren bei beiden Testsätzen positiv.

		REFERENZ	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

Die Spezifität des Testsatzes beträgt 97 % (CI 95 %: 92–99) und die Sensivität 95 % (CI 95 %: 77–99).

14. PRÄZISION

Tabelle 1. Präzision innerhalb eines Durchlaufs

	Anzahl der Parallelproben	**Mittelwert Index**	**St.-Testm.**	**CV %**
Chargennr. 024	6	3.3	0.25	8
Chargennr. 025	6	3.3	0.31	9
Chargennr. 026	9	2.0	0.13	7

Tabelle 2. Präzision zwischen Durchläufen und Chargen

Probe	Mittelwert Index			Mittelwert	St.-Testm.	CV %
	Charge 024	Charge 025	Charge 026			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. LITERATUR

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Ελληνικά)

1. ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ IgM ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΙΜΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ (EARLY ANTIGEN) ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ EPSTEIN-BARR ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΜΕ ΣΕΤ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΣΥΣΚΕΥΗ ΑΝΑΛΥΣΗ CHORUS.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα πρόωρα αντιγόνα ("Early Antigens") του ιού του Epstein Barr (EBV-EA) είναι ικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί πρώιμα κατά την λύση της λοίμωξης. Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων αντι-EBV-EA του ορού, μέσω έμμεσου ανοσοφθορισμού, χρησιμοποιήθηκε για πολύ καιρό, σε συνδυασμό με τον προσδιορισμό των IgG και των IgM εναντίον των καψιδικών αντιγόνων (VCA) και των IgG εναντίον ενός πυρηνικού αντιγόνου (EBNA-1), για την διάγνωση της λοιμώδους μονοπυρήνωσης (IM). Πρόσφατα αποδείχθηκε ό,τι ο προσδιορισμός με την ανοσοενζυμική μέθοδο, των IgG και των IgM του ορού εναντίον δύο πρώιμων πρωτεϊνών, της p138 και της p54, συσχετίζεται σε ικανοποιητικό βαθμό με τις μεθόδους έμμεσου ανοσοφθορισμού και μπορεί να εφαρμοστεί συμπληρωματικά κατά τον προσδιορισμό των αντισωμάτων αντι-VCA, ή και να τις αντικαταστήσει ακόμη κατά την διάγνωση της IM.
Το κιτ για τον προσδιορισμό, με ανοσοενζυμική μέθοδο των IgG και των IgM αντι-EBV-EA χρησιμοποιεί ανασυνδυασμένα πολυπεπτίδια που έχουν παραχθεί σε E. coli και που περιέχουν τους επιτόπους των πρωτεϊνών p138 και p54.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

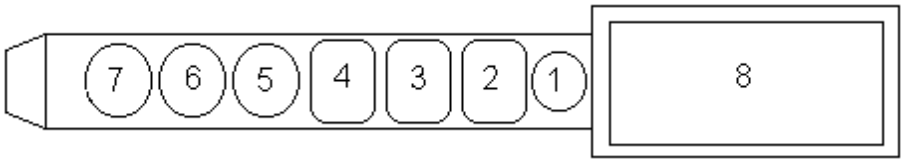
Τα ανασυνδυασμένα αντιγόνα συνδέονται με τη στερεά φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μέσω επώασης με αραιωμένο ανθρώπινο ορό. Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι IgM συζευγμένα με υπεροξειδάση.
Απομακρύνεται το συζυγές που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης.
Το χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο 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.

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81059).
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81059/12).

DD ΣΕΤ
6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81059).
2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81059/12).

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



Περιγραφη:
Θεση 8: χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού
Θεση 7: άδεια
Θεση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ (Κυψελίδα αντίδρασης) με ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες των πρώιμων αντιγόνων του ιού Epstein Barr.
Θεση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ μη ευαισθητοποιημένη.
Θεση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB
Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H_2O_2 0.01% σταθεροποιημένα σε κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα 0.05 mol/L (pH 3.8).
Θεση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ
Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05%, Bronidox 0.02% και έναν δείκτη που ανιχνεύει την παρουσία ορού.
Θεση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ
Περιεχόμενο: Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgM μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.
Θεση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ **1 x 0.175 mL**
Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ **1 x 0.425 mL**
Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.

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

5. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό ελέγχου (βλ. κεφ. 9 Εγκυρότητα του τεστ).
Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε σετ και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

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

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ	8 εβδομάδες σε 2/8°C

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μετά από κάθε τοποθέτηση των σετ στο CHORUS.
2. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
   α) το συζυγές περιέχει φαινόλη
   β) το υπόστρωμα είναι όξινο
   Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνατε με άφθονο νερό.
3. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
4. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η επιφάνεια να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την διαδικασία ανάλυσης. Αν τα υγρά περιείχαν ένα οξύ, τότε στεγνώστε πολύ καλά την επιφάνεια πριν χρησιμοποιήσετε το υποχλωριώδες νάτριο. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

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

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην 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 πειράξετε και μην αλλοιώσετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης barcode να τον διαβάσει σωστά.
7. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
8. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
9. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
10. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ό,τι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
11. Περάστε τον ορό που θα αναλυθεί (50 µl) στην κυψελίδα 1 του σετ (βλ. εικόνα).
12. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα είναι ένας ορός που προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους κανονισμούς των εργαστηρίων. Ο νωπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C, ενώ για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους –20°C. Αποφεύγετε τη χρήση αυτο-αποψυχόμενων ψυγείων για τη συντήρηση των δειγμάτων. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Μετά από την απόψυξη και πριν να το ρίξετε στην κυψελίδα, ανακινήστε το καλά. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος, και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.
Δείγματα με ισχυρή αιμόλυση, με ίκτερο, λιπαιμικά ή μολυσμένα, δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται.
Το τεστ δεν μπορεί να γίνει πάνω σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 6 Αναλυτικές Οδηγίες, σημεία 1 και 8.
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός σετ, 50 µl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει 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 το αποτέλεσμα σε INDEX (λόγος της τιμής του D.O. του υπό ανάλυση δείγματος προς αυτήν του Cut-off) και που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ποσοτική μέτρηση, καθώς είναι ανάλογος προς την ποσότητα των ειδικών IgM.
Το δείγμα ορού μπορεί να αποδειχθεί:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν ο Index είναι > 1.2.
ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν ο Index είναι < 0.8.
ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: για όλες τις τιμές μεταξύ 0.8 και 1.2.

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Το αποτέλεσμα του τεστ χρησιμεύει αποκλειστικά ως υποβοήθηση στην διάγνωση και πρέπει να επικυρωθεί μαζί με άλλα δεδομένα που προέρχονται από άλλες διαγνωστικές έρευνες.
Υπάρχει πιθανότητα διασταυρούμενων αντιδράσεων με δείγματα που περιέχουν αντισώματα αντι-E. coli.
Τα χαρακτηριστικά της ανάλυσης δεν έχουν προκαθοριστεί για οπτική ερμηνεία. Επίσης δεν μελετήθηκαν σε ασθενείς που έπασχαν από ρινο-φαρυγγικό καρκίνωμα, από λέμφωμα του Burkitt, ούτε από άλλες λεμφαδενοπάθειες που συνδέονται με τον EBV, εκτός από την μονοπυρήνωση που συνδέεται με τον EBV.
Επειδή τα αντισώματα αντι-EBNA IgG ανιχνεύονται σε φυσιολογικούς ορούς ασθενών σε ανάρρωση, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διάγνωση μία και μόνη παράμετρος. Η ακριβής διάγνωση μίας λοίμωξης από EBV πρέπει να βασίζεται στα αποτελέσματα των VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG και EA IgM καθώς και στα ετερόφιλα αντισώματα.
Το τεστ πρέπει να γίνεται πάνω σε ορό. Δεν έχει καθοριστεί η εφαρμογή του στο ολικό αίμα ή στο πλάσμα.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αναλύθηκαν 10 δείγματα αρνητικά ως προς τα αντισώματα IgM αντι-EA που περιείχαν αντισώματα IgM αντι-CMV, αντι-Απλού Έρπητα και αντι-Έρπητα Ζωστήρα. Σε καμία περίπτωση η παρουσία των ανωτέρω αντισωμάτων δεν επηρέασε το αποτέλεσμα του κιτ Enzywell EA IgM.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ:

Αναλύθηκαν 149 οροί συγκριτικά με μία άλλη ανοσοενζυμική μέθοδο. Βρέθηκαν 124 οροί αρνητικοί και 20 θετικοί και με τα δύο κιτ.

		ΑΝΑΦΟΡΑ	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

Το κιτ παρουσιάζει μία ειδικότητα 97% (CI 95%: 92–99) και μία ευαισθησία 95% (CI 95%: 77–99).

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Πίνακας 1. Ακρίβεια κατά την ανάλυση

	Αριθμός επαναλήψεων	M. T. Index	Τυπική Απόκλιση	CV%
Παρτίδα 024	6	3.3	0.25	8
Παρτίδα 025	6	3.3	0.31	9
Παρτίδα 026	9	2.0	0.13	7

Πίνακας 2. Ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων και μεταξύ παρτίδων

Δείγμα	M. T. Index			M. T.	Τυπική Απόκλιση	CV%
	Παρτίδα 024	Παρτίδα 025	Παρτίδα 026			
ΕΑΜ 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
ΕΑΜ 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
ΕΑΜ 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgM ANTI-EARLY ANTIGEN DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

Los antígenos tempranos ("Early Antigens") del virus de Epstein Barr (EBV-EA) son proteínas virales fabricadas precozmente en el curso de la infección lítica. La determinación de los anticuerpos séricos anti-EBV-EA por medio de IFA indirecta ha sido utilizada durante mucho tiempo junto con la determinación de las IgG e IgM directas contra los anticuerpos cápsides (VCA) y de las IgG directas contra el antígeno nuclear (EBNA-1) para el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa (IM). Recientemente se ha demostrado que la determinación por medio de un método inmunoenzimáticos de las IgG e IgM séricas contra dos proteínas tempranas, la p138 y la p54, correlacionan con los métodos de IFA indirecta y se puede utilizar, además de complemento de la determinación de los anticuerpos anti-VCA, también como substitución de estos para el diagnóstico de la M.I.
El kit inmunoenzimático para la determinación de las IgG e IgM anti-EBV-EA utiliza polipéptidos recombinantes procedentes de E. coli que contienen los anticuerpos de las proteínas p138 y p54.

3 PRINCIPIO DEL MÉTODO

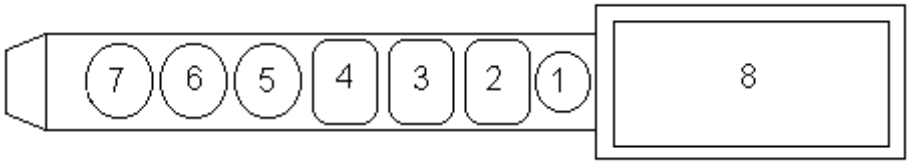
Los antígenos recombinantes están unidos a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.
Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto por anticuerpos monoclonales humanos IgM marcados con peroxidasa.
El conjugado que no se ha unido, es eliminado por lavado y se añade el sustrato de peroxidasa.
El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.
Los dispositivos de un solo uso contienen todos los reactivos para realizar el test cuando aplicados a los equipos Chorus.
El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay)

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81059)
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81059/12).

DD DISPOSITIVOS
6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81059).
2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81059/12).

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.



Descripción:
Posición 8: espacio libre para etiquetas con código de barras
Posición 7: libre
Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA sensibilizado con proteínas recombinantes de los antígenos precoces EBV-EA
Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado
Posición 4: SUSTRATO TMB
Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y peróxido de hidrógeno 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)
Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS
Contenido: Solución de proteínas que contiene fenol al 0.05% y Bronidox 0.02% y un marcador para revelar la presencia de suero
Posición 2: CONJUGADO
Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgM humanos marcados con peroxidasa, en una solución fosfato tamponada con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%
Posición 1: POCILLO LIBRE donde el usuario dispensa el suero sin diluir

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 mL**
Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 0.425 mL**
Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS.

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

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada mediante suero de control (ver capítulo 9 validación del test)
La fecha de caducidad está impresa en la etiqueta del dispositivo.

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

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

6. PRECAUCIONES DE USO

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO. CONSERVAR A 2-8°C

Cuidado:
Este kit contiene materiales de origen humano que han sido probados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas 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 infecto. Todos los materiales de origen humano tienen que manejarse según las prácticas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

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

   Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.
3. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1,0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
4. El vertido de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

El tipo de muestra está representado por el suero recogido normalmente de la vena y manejado con apropiadas precauciones como requerido 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 y no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelante. Después de deshelar, agitar con cuidado antes de la titulación. La calidad de la muestra puede ser seriamente afectada por la contaminación micróbiana que conduce a resultados erróneos.

No utilizar muestras muy lipémicas, ictéricas, hemolizadas o contaminadas.

El test no se puede aplicar a plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre 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 6 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 DEL TEST

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 provee el resultado en INDEX (relación entre el valor de la D.O. de la muestra y lo del Cut-off) que puede ser empleado como medida cuantitativa por ser proporcional a la cantidad de IgM específicas
La muestra se considera:

Positivo: si el Index es > 1.2.
Negativo: si el Index es < 0.8.
Dudoso/Equívoco: para todos los valores entre 0.8 y 1.2

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

11. LIMITACIONES

El resultado del test sirve sólo como referencia para el diagnóstico y debe ser evaluado junto con datos procedentes de otros procedimientos de diagnóstico.
Existe la posibilidad de reacciones cruzadas con muestras conteniendo anticuerpos anti-E. coli.
Las características del procedimiento no han sido establecidas para una interpretación visual. Además no se estudiaron en pacientes afectados por carcinoma nasofaringeo, linfoma de Burkitt u por otras linfadenopatías, asociadas a EBV, excluyendo la mononucleosis relacionadas con EBV.
Ya que los anticuerpos anti-EA IgG están presentes en sueros normales de pacientes convalecientes, no puede ser utilizado para el diagnóstico como un único parámetro. La interpretación precisa de una infección por EBV se basa sobre los resultados del VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM, más los anticuerpos eterófilos. El test se efectúa sobre el suero. La aplicación sobre sangre total o plasma, todavía nos está establecida.
se efectúa sobre el suero. No se ha establecido la aplicación sobre sangre entera ni sobre plasma.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se probaron 10 sueros de pacientes negativos a los anticuerpos IgM anti-EA que contenían anticuerpos IgM contra virus como los de CMV, Herpes Simplex y Varicela. En ningún caso la presencia de dichos anticuerpos afectaba el kit EA IgM.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

En una prueba clínica, se analizaron 149 muestras de suero, 124 de las cuales resultaban negativas y 20 resultaban positivos en acuerdo con otro kit comercial.

		REFERENCIA	
			-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

El kit ofrece una especificidad del 97% (CI 95%: 92–99) y una sensibilidad del 95% (CI 95%: 77–99).

14. REPRODUCIBILIDAD

Tabla 1. Reproducibilidad intra-ensayo

	Número de réplicas	**Media Index**	**Desv. Estándar**	**CV%**
Lot no. 024	6	3.3	0.25	8
Lot no. 025	6	3.3	0.31	9
Lot no. 026	9	2.0	0.13	7

Tabla 2. Reproducibilidad entre ensayos y entre lotes

Muestra	Media Index			Media	Desv. Estándar	CV%
	Lot 024	Lot 025	Lot 026			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. BIBLIOGRAFÍA

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Français)

1. UTILISATION

DETERMINATION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgM ANTI-ANTIGENE PRECOCE DU VIRUS D'EPSTEIN BARR DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF MONO USAGE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS.

2. INTRODUCTION

Les antigènes précoces du virus d'Epstein Barr (EBV) sont des protéines virales qui se produisent précocement pendant l'infection lytique. La détermination des anticorps anti-EBV EA dans le sérum à travers la technique de l'immunofluorescence indirecte a été utilisée depuis longtemps, associée à la détermination des IgG et des IgM dirigées vers les antigènes du capside (VCA) et des IgG dirigées vers un antigène nucléaire (EBNA-1), pour la diagnose de la mononucléose infectieuse (IM).
Récemment on a démontré que la détermination des IgG et des IgM sériques vers deux protéines précoces, la p138 et la p54, à travers une méthode immunoenzymatique, est bien corrélée avec l'immunofluorescence indirecte et cette méthode peut être utilisée, comme complément à la détermination des anticorps anti-VCA et elle peut la remplacer dans la diagnose de l'IM.
La trousse pour la détermination avec une méthode immunoenzymatique des IgM anti-EBV EA, utilise des polypeptides recombinants produits en E. coli contenant les épitopes des protéines p138 et p54.

3. PRINCIPE

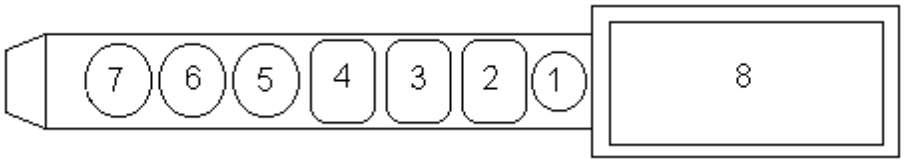
Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). Les antigènes recombinants sont liés à la phase solide. A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après des lavages pour éliminer les protéines qui ne se sont pas liés, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgM humaines marqués à la peroxydase.
On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat. La couleur qui se produit est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques dans le sérum en examen.
Les dispositifs à jeter contiennent tous les réactifs pour effectuer le test appliqué aux instruments Chorus.

4. CONTENU DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 81059).
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81059/12).

DD DISPOSITIFS
6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81059).
2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81059/12).

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



Description:
Position 8: Place disponible pour l'étiquette avec le code à barres
Position 7: vide

Position 6: PUITS DE LA MICROPLAQUE sensibilisé avec les protéines recombinantes des antigènes précoces de l'EBV.
Position 5: PUITS DE LA MICROPLAQUE non sensibilisé
Position 4: SUBSTRAT TMB
Contenu: Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/mL et du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 0.01 % stabilisé dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH = 3.8)
Position 3: DILUENT DES ECHANTILLONS
Contenu: Solution protéique additionnée de 0.05% de phénol et 0.02% de bronidox et une indicateur pour révéler la présence du sérum
Position 2: CONJUGUE
Contenu: anticorps monoclonaux anti-IgM humaines marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol (0.05%) et du Bronidox (0.02%)
Position 1: PUITS VIDE dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué

CALIBRATOR CALIBRATEUR **1 x 0.175 mL**
Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage.**

CONTROL + CONTROLE POSITIF **1 x 0.425 mL**
Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage.**

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Instrument Chorus / Chorus Trio
- Eau distillée ou désionisée
- Verrerie normale de laboratoire (éprouvette, pipette, etc...)
- Micropipette capable de prélever 50-200 µl de solution
- Gants mono-usage
- Solution d'hypochlorure de sodium (5%)
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectieux

5. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

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

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

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

6. PRECAUTIONS D'UTILISATION

POUR DIAGNOSTIC IN VITRO.

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

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

Precautions de securite

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à usage unique et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons. Se laver soigneusement les mains après avoir distribué les dispositifs dans le Chorus.
2. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
    a) Le conjugué contient du phénol
    b) Le substrat est acide.
3. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorure de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
4. En cas de versement accidentel de matériaux potentiellement infectieux, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorure de sodium (1%), avant de continuer le test. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorure de sodium. Tout matériel (notamment les gants) souillé par d'éventuelles éclaboussures doit être considéré comme potentiellement infectieux et éliminé selon la réglementation en vigueur. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant l'hypochlorure de sodium.

Precautions analytiques

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

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

7. TYPE D'ECHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est constitué par sérum obtenu du sang prélevé normalement et manipulé selon les procédés standard de laboratoire. Le sérum frais peut être stocké à +2/+8°C pendant 4 jours; pour un stockage plus long, congeler les sérums à – 20°C. Éviter l'utilisation de l'espace de congélateur à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Il ne faut pas les décongeler et recongeler plus de 3 fois. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant utilisation. Les échantillons qui présentent une contamination microbienne peuvent fausser les résultats. Ceux qui sont fortement lipémiques, ictériques ou contaminés ne doivent pas être utilisés.
Ne pas utiliser d'échantillon de plasma humain.

8. MODE OPERATOIRE

1. Découper le sachet du côté contenant la fermeture à pression, sortir le numéro de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 6 : Précautions analytiques no. 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque change du lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer la calibration (si nécessaire) et le test selon le procédé reporté dans le Manuel de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu (on l'utilise comme décrit dans le Manuel du Chorus). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors du range d'acceptabilité, il faut répéter la calibration. Les résultats précédents viennent corrigés automatiquement.
Si le résultat du sérum de contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

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

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

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

Positif: si l'Index est > 1.2
Douteux/Equivoque: si l'Index est compris entre 0.8 et 1.2
Négatif: si l'Index est < 0.8

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

11. LIMITES DE LA METHODE

Les résultats obtenus servent seulement comme aide à la diagnose; il faut les évaluer toujours ensemble avec les résultats d'autres méthodes diagnostiques.
Il y a la possibilité d'interférence si l'échantillon contient des anticorps anti-E. coli.
Les caractéristiques de la performance n'ont pas été évaluées dans les sujets atteints du lymphome de Burkitt, cancer du rhinopharynx ou d'autres lymph-adenopathies associés à l'EBV, à l'exclusion de la mononucléose associée à l'EBV.
La diagnose ne peut pas se baser seulement sur les résultats du test. Une attente interprétation d'une infection causée par l'EBV se base sur les résultats du VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG et EA IgM.
Le test est effectué sur le sérum. L'utilisation du sang ou du plasma n'a pas été établi.

12. SPECIFICITE ANALYTIQUE

10 échantillons qui étaient négatifs aux anticorps anti.-EBV, contenaient des IgM anti-CMV, anti-Herpes Simplex et anti-Varicella. On n'a observé aucune interférence causée par ces anticorps dans la méthode EA IgM.

13. SPECIFICITE' ET SENSIBILITE' DIAGNOSTIQUES

Dans une expérimentation interne, 149 échantillons ont été analysés, dont 124 négatifs et 20 positifs, en accord avec une autre méthode du commerce.

		REFERENCE	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

La spécificité est de 97% (CI 95%: 92–99) et la sensibilité de 95% (CI 95%: 77–99).

14. PRECISION

Table 1. Précision dans la série

	Nombre de répliques	Moyen Index	S.D.	CV%
Lot no. 024	6	3.3	0.25	8
Lot no. 025	6	3.3	0.31	9
Lot no. 026	9	2.0	0.13	7

Table 2. Précision inter- séries et entre lots

Echantillon	Moyen Index			Moyen	S.D.	CV%
	Lot 024	Lot 025	Lot 026			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. BIBLIOGRAPHIE

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Português)

1. FINALIDADE

DETECÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS IgM CONTRA O "EARLY ANTIGEN" DO EPSTEIN BARR EM SORO HUMANO, USANDO UM DISPOSITIVO DESCARTAVEL APLICADO AOS EQUIPAMENTOS CHORUS

2. INTRODUÇÃO

Os "Early Antigens" do Epstein Barr (EBV-EA) são proteínas produzidas durante a fase inicial lisossômica da infecção. Para diagnose de mononucleose infecciosa (MI) foi usada por muito tempo a imunofluorescência indireta para detectar anticorpos contra EBV-EA, junta com a detecção de IgG e IgM contra os antígenos do cápside (VCA) e IgG contra o antígeno nuclear (EBNA-1). Recentemente foi demonstrado que a detecção imunoenzimologica das IgG e IgM sorosas contra duas proteínas precoces, p138 e p54, mostram boa correlação com a imunofluorescência indireta, e pode ser usada não só como método complementar na detecção dos anticorpos conta VCA, mas como substituto destes métodos na diagnose de MI.
O kit para detecção imunoenzimologica das IgG e IgM contra EBV-EA usa polipeptídios recombinantes, produzidos em E. coli, contendo epitopos das proteínas p138 e p54.

3. PRINCIPIO DE AÇÃO

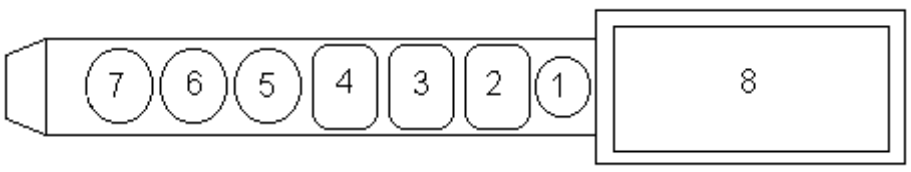
O teste é um enzimaimunoensaio (ELISA). Antígenos recombinantes são insolubilizados na fase sólida. Durante a incubação com soro humano diluído, as imunoglobulinas especificas ligam-se ao antígeno insolubilizado. Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra não ligados são removidos. Em uma segunda incubação as ligações de IgM anti-EA são detectadas pela adição de anticorpo monoclonal anti-IgM humana, conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Após aspiração e lavagem outros componentes do conjugado não ligados são removidos.
A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno-substrato, gera um sinal óptico que é proporcional a quantidade de IgM anti-EA presente na amostra.
Os dispositivos descartáveis contem todos os reagentes necessários para realizar o teste, se aplicados aos equipamentos CHORUS.

4. REAGENTES DO KIT E PREPARO

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81059).
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81059/12).

DD DISPOSITIVOS
6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81059).
2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81059/12).

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



Descrição:
Posição 8: Espaço disponível para rotular com código de barras

Posição 7: vazio
Posição 6: CAVIDADE DE MICROPLACA sensibilizada com antígenos EA recombinante.
Posição 5: CAVIDADE DE MICROPLACA não sensibilizada
Posição 4: TMB SUBSTRATO
Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL e H_2O_2 0.01% estabilizados em 0.05 mol/L tampão citrato (pH 3.8)
Posição 3: DILUENTE DE AMOSTRAS
Conteúdo: Solução protéica, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para revelar a presença de soro.
Posição 2: CONJUGADO
Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgM humanas marcados com peroxidase, em solução tampão de fosfato com fenol 0.05% e Bronidox 0.02%.
Posição 1: CAVIDADE VAZIA na qual o operador precisa dispensar o soro não diluído

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0.175 mL**
Conteúdo: soro humano diluido contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada**

CONTROL + CONTROLO POSITIVO **1 x 0.425 mL**
Conteúdo: soro humano diluido contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada**

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS.

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

5. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8°C. Em caso de temperatura de armazenamento errada, é necessário refazer a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do soro de controle (ver item 9: validação do teste).
A data de vencimento é impressa em cada componente e no rótulo caixa.

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

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

6. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as faixas utilizadas devem ser tratados como resíduos infecciosos e portanto, eliminados em conformidade com as disposições legais aplicáveis.

Precauções de Biossegurança

1. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear as amostras e durante o teste. Lavar as mãos depois de inserir o dispositivo no equipamento CHORUS.
2. Os seguintes reagentes contem baixas concentrações de substancias perigosas ou irritantes:
   a) O conjugado contem fenol
   b) O substrato é acido
   Em caso de contato desses reagentes com os olhos e pele, lavar abundantemente com água.
3. Ácidos neutralizados e outros descartes líquidos precisam ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para atingir uma concentração final de 1%. Deixando agir o hipoclorito por 30 minutos geralmente é suficiente para uma desinfecção válida.
4. Derramamentos de materiais potencialmente infecciosos precisam ser removidos imediatamente com mata-borrão e a área infectada deve ser limpa, por exemplo, com hipoclorito de sódio 1%, antes de continuar o trabalho. Caso esteja presente um acido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para limpeza, incluindo luvas, devem ser descartados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

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

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

7. TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

A amostra é soro, obtido de sangue coletado das veias e manuseado segundo á precauções do laboratório. O soro fresco pode ser conservado a 2/8°C por 4 dias; para períodos de tempo maiores conservá-lo a –20°C. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras. A amostra pode ser descongelada no maximo 3 vezes. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes do teste. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.
Não usar amostras fortemente lipêmicas, ictéricas, hemolizadas ou inquinadas.
Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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

9. ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO

Usar o Soro de Controle para verificar a exatidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Uso do equipamento. No caso o equipamento apontar o Soro de Controle fora do range de aceitação, precisa calibrar o equipamento uma outra vez. Os resultados antecedentes serão corrigidos automaticamente.
Se o resultado do soro de 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 equipamento Chorus fornece resultados em INDEX (relação entre o valor de D.O. da amostra em teste e aquilo do Cut-Off), e pode ser usado como medida quantitativa, sendo proporcional à quantidade das IgM especificas.
A amostra será:

Positiva: quando o Index é >1.2
Negativa: quando o Index é < 0.8
Incerto/Equivocado: para todos os valores entre 0.8 e < 1.2

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

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O resultado do teste pode ser usado só como guia diagnóstica e deve ser avaliado juntamente com outros testes diagnósticos.
Existe a possibilidade de reações cruzadas com anticorpos contra E.coli.
As características do produto não foram estabelecidas para uma avaliação visual, e também não forma avaliados pacientes com carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt ou outras doenças linfáticas associadas com EBV, à excepção de mononucleose EBV dependente.
Sendo os anticorpos IgG contra EA presentes no soro de convalescentes, a diagnose não pode ser baseada num só parâmetro. Uma diagnose escrupulosa de infecção de EBV precisa basear-se nos resultados de VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG e EA IgM e do teste para anticorpos heterofilos.
O teste pode ser realizado só com soro. Uso de sangue ou de plasma não foi avaliado.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

10 amostras, negativa para IgM contra EA, mas positivas para IgM contra outros vírus, como CMV, Herpes Simplex e Varicela, foram testadas. Em caso nenhum a presença destes anticorpos interfere no teste Enzywell EA IgG.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

149 amostras foram testadas em confronto com um outro teste comercial: 124 negativas e 20 positivas. Os resultados são reportados na tabela seguinte.

		REFERÊNCIA	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

O produto mostra 97% de especificidade (CI 95%: 92–99) e 95% de sensibilidade (CI 95%: 77–99).

14. PRECISÃO

Tabela 1. Precisão no teste

	Número de repetições	**Média Index**	**D. P.**	**CV%**
Lot no. 024	6	3.3	0.25	8
Lot no. 025	6	3.3	0.31	9
Lot no. 026	9	2.0	0.13	7

Tabela 2. Precisão entre testes e entre lotes

Amostra	**Média Index**			**Média**	**D. P.**	**CV%**
	Lot 024	**Lot 025**	**Lot 026**			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. BIBLIOGRAFIA

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).
4. Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM

(Romana)

1. UTILIZARE RECOMANDATA

DETERMINARE CALITATIVA A ANTICORPILOR IgM IMPOTRIVA EPSTEIN BARR EARLY ANTIGEN IN SERUL UMAN, UTILIZAND UN DISPOZITIV DE UNICA FOLOSINTA APLICAT PE INSTRUMENTELE CHORUS

2. INTRODUCERE

Antigenele Early Epstein Barr (EBV-EA) sunt proteine virale care sunt produse in stadiile incipiente ale infectiei litice. In diagnosticarea mononucleozelor infectioase (IM), s-a adoptat pentru o perioada lunga imunofluorescenta indirecta pentru determinarea anticorpilor din ser fata de EBV-EA, in asociatie cu detectarea de IgG si IgM fata de antigenele capsidei virale (VCA), si IgG fata de anitigenul nuclear (EBNA-1). Recent s-a demonstrat ca determinarea imunoenzimatica a IgG si IgM serice impotriva celor doua proteine timpurii, p138 si p54, arata o buna corelare cu metoda indirecta de imunofluorescenta si poate fi utilizata, nu doar ca metoda complementara in determinarea anticorpilor anti-VCA, dar si ca un substituent pentru aceste metode in diagnosticarea de IM.
Trusa pentru determinare imunoenzimatica a IgG si IgM anti-EBV-EA foloseste polipeptide recombinante produse in E. coli cu continut de epitope ale proteinelor p138 si p54

3. PRINCIPIUL METODEI

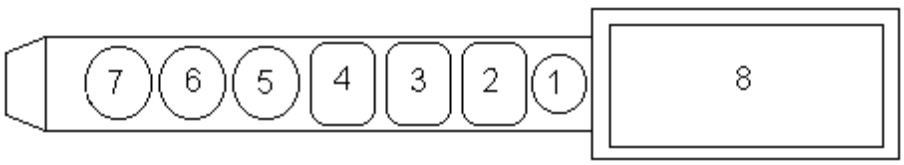
Antigenele recombinate sunt legate de faza solida. Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubarea cu ser uman diluat.
Dupa spalarea pentru eliminarea proteinelor care nu au reactionat, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi umani monoclonali IgM conjugati cu peroxidaza de hrean.
Conjugatul nelegat este eliminat si substratul de peroxidaza este adaugat.
Culoarea care se dezvolta este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.
Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus

4. COMPOZITIA TRUSEI SI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 81059).
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 81059/12).

DD DISPOZITIVE
6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81059).
2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81059/12).

Utilizare: **echilibrati un pachet la temperatura camerei**, deschideti pachetul si indepartati dispozitivele necesare, lasati-le pe celelalte in plicul cu silicagel, eliminati aerul si **sigiliati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.



Descriere:
Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea etichetei codului de bare
Poszitia 7: gol
Pozitia 6: GODEU MICROPLACI captusit cu antigene recombinate EBV Early
Pozitia 5: GODEU MICROPLACI necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL si H_2O_2 0.01% stabilizat in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: DILUANT PROBA

Continut: Solutie proteica cu continut de fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator care sa indice prezenta serului

Pozitia 2: CONJUGAT

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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.175 mL**

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

CONTROL + CONTROL POZITIV **1 x 0.425 mL**

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

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE.

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Instrumentele Chorus / Chorus Trio
- Apa distilata sau deionizata
- Stilarie de laborator normala: cilindrii, tuburi test- etc.
- Micropipete pentru pipetare adecvata de solutie 10, 100, 1000 µl
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de hipoclorit de sodiu (5%)
- Containere pentru colectarea potentialelor materiale infectioase

5. PASTRAREA SI STABITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie sa fie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura incorecta calibrarea trebuie repetata si circuitul validat utilizand ser control (vezi punctul 9, Validarea testului) .
Data de expirare este listata pe fiecare component si pe eticheta trusei.

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

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

6. PRECAUTII

DOAR PENTRU DIAGNISTICARE IN VITRO.

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

Informatii privind sanatatea si siguranta

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

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

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

Precautii analitice

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

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

7. TIPUL SI PASTRAREA PROBEI

Proba este compusa din ser colectat in maniera normala din vene si manipulat cu precizia dictate de practica de laborator. Serul proaspat poate fi pastrat pentru 4 zile la 2/8°C, sau congelat pentru mai mult timp la –20°C, si poate fi congelat-dezongelat de maximum 3 ori. Evitati folosirea frigiderelor cu auto-dezghetare pentru depozitarea probelor. Probele decongelate trebuie agitate cu atentie inainte de utilizare. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminare microbiala, care duce la rezultate eronate.
Probele puternic lipemice, icterice, hemolizate sau contaminate trebuie evitate.
Testul nu poate fi aplicat plasmei

8. PROCEDURA

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

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru verificarea validitatii rezultatelor obtinute. Trebuie folosit conform Manualului de Operare. Daca instrumentul semnalizeaza ca serul de control are o valoare in afara limitei acceptabile, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.
Daca rezultatul serului de control continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprima rezultatele ca un INDEX (raportul dintre valoarea OD a probei si valoarea Cut-Off) care poate fi utilizata ca o masura cantitativa, fiind proportionala cu concentratia IgM specifice prezente.
Serul test poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand raportul este > 1.2
NEGATIV: cand raportul este <0.8
INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile intre 0.8 si 1.2

In cazul unui rezultat incert/echivoc, repetati testul. Daca testul ramane incert/echivoc, colectati o noua proba dupa 1-2 saptamani.

11. LIMITARILE PROCEDURII

Rezultatele obtinute pot fi utilizate ca ghid in diagnosticare si trebuie intotdeauna evaluate cu rezutatele altor procedure de diagnosticare.
Exista posibilitatea unei reactii incrucisate cu probe cu continut de anticorpi anti-E. coli.
Caracteristicile de performanta nu au fost determinate pentru o interpretare vizuala si nici nu au fost evaluate la pacientii afectati de carcinoma nasofaringeala, limfom Burkitt sau alte limfodenopatii associate cu EBV, diferite de mononucleozele EBV.
Diagnosticul nu poate fi stabilit pe baza unui singur parametru. O interpretare corecta a infectiei EBV trebuie bazata pe rezultatele VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM, pe langa anticorpii heterofili.
Testul trebuie efectuat pe ser. Utilizarea sangelui sau plasmei nu a fost stabilita.

12. SPECIFICITATE ANALITICA

Au fost testate 10 probe care au fost negative pentru anti –EA IGM, si care de asemenea contineau IgM impotriva altor virusi cum ar fi CMV, Herpes Simplex si Varicela. In nici un caz prezenta acestor anticorpi nu a interferat cu trusa EA IgM.

13. SPECIFICITATE SI SENSIBILITATE

S-au testat 149 probe de ser in comparatie cu alt test imonoenzimatic. S-au gasit urmatoarele rezultatele:
124 probe negative si 20 pozitive in ambele truse.

		REFERINTA TRUSA	
		+	-
DIESSE	+	20	4
	-	1	124

Trusa arata o specificitate de 97% (CI 95%: 92–99) si o sensibilitate de 95% (CI 95%: 77–99).

14. PRECIZIE

Tabel 1. Precizie in circuit

	Nr. de replicis	**Mean Index**	**St. Dev.**	**CV%**
Lot nr. 024	6	3.3	0.25	8
Lot nr. 025	6	3.3	0.31	9
Lot nr. 026	9	2.0	0.13	7

Tabel 2. Precizie intre circuite si intre serii

Proba	**Mean Index**			**Mean**	**St. Dev.**	**CV%**
	Lot 024	**Lot 025**	**Lot 026**			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. REFERINTE

1.Gorgievski H.M., Hinderer W. et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).

2.Middeldorp, J.M. and Herbrink, P. Epstein-Barr virus specific marker molecules for early diagnosis of infectious mononucleosis. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).

3.Luka, J., Chase, R.C. and Pearson G.R. A sensitivite enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).

4.Motz, M., Fan J., Seibl R., and Wolf H. Expression of the Epstein Barr Virus 138 KDa early protein in E. coli for the use as antigen in diagnostic tests. Gene 42: 303-312 (1986).

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS
EPSTEIN-BARR ankstyvasis antigenas IgM

(lietuvių kalba)

1. TIKSLINIS NAUDOJIMAS

Kokybinis IgM klasės antikūnų prieš EPSTEIN BARR ankstyvąjį antigeną nustatymas žmogaus serume, naudojant išsklaidomąjį prietaisą, pritaikytą CHORUS INSTRUMENTAMS

2. ĮVADAS

Ankstyvieji Epstein Barr antigenai (EBV-EA) yra viruso baltymai, kurie susidaro ankstyvosiose lytiškos infekcijos stadijose. Infekcinei mononukleozei (IM) diagnozuoti ilgą laiką buvo taikoma netiesioginė imunofluorescencija serumo antikūnams prieš EBV-EA nustatyti, kartu nustatant IgG ir IgM prieš kapsidės antigenus (VCA) ir IgG prieš branduolio antigeną (EBNA-1). Neseniai buvo įrodyta, kad imunofermentinis IgG ir IgM prieš du ankstyvuosius baltymus p138 ir p54 nustatymas kraujo serume gerai koreliuoja su netiesioginės imunofluorescencijos metodu ir gali būti naudojamas ne tik kaip papildomas metodas nustatant antikūnus prieš VCA, bet ir kaip šių metodų pakaitalas diagnozuojant IM.
DIESSE rinkinyje IgG ir IgM anti-EBV-EA imunofermentiniam nustatymui naudojami rekombinantiniai polipeptidai, pagaminti E. coli, turintys baltymų p138 ir p54 epitopus.

3.METODO PRINCIPAS

Rekombinantiniai antigenai prisijungia prie kietosios fazės. Po inkubacijos su praskiestu žmogaus serumu specifiniai imunoglobulinai prisijungia prie antigeno.
Po plovimo, kad būtų pašalinti nesureagavę baltymai, inkubuojama su konjugatu, sudarytu iš monokloninių antikūnų prieš žmogų IgM, žymėtų peroksidazės ženklu.
Nesusijęs konjugatas pašalinamas ir pridedamas peroksidazės substratas.
Išsiskirianti spalva yra proporcinga specifinių antikūnų koncentracijai serumo mėginyje.
Vienkartiniuose prietaisuose yra visi reagentai, reikalingi tyrimui atlikti, kai jie naudojami "Chorus" prietaisuose.

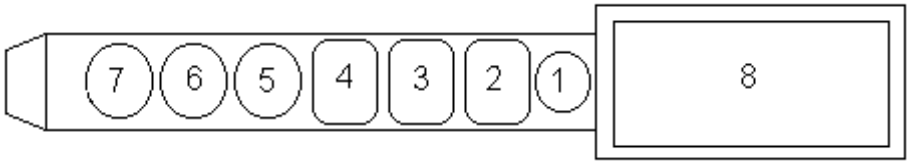
4. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimams atlikti (REF 81059).
Rinkinio pakanka 12 testų (REF 81059/12).

DD ĮRENGINIAI

6 pakuotės, kurių kiekvienoje yra 6 prietaisai (REF 81059).
2 pakuotės, kurių kiekvienoje yra 6 prietaisai (REF 81059/12).

Naudojimas: **išlyginkite pakuotę kambario temperatūroje,** atidarykite pakuotę ir išimkite reikiamus prietaisus; kitus pakeiskite silikageliu, išstumkite orą ir **uždarykite** paspausdami užraktą. Laikykite 2-8 °C temperatūroje.



Aprašymas:
8 pozicija: vieta brūkšninio kodo etiketei klijuoti
7 pozicija: tuščia
6 pozicija: MIKROPLOKŠTELĖ, padengta rekombinantiniais EBV ankstyvųjų antigenų baltymais
5 pozicija: nepadengta MIKROPLOKŠTĖS ŠULINUKAS
4 pozicija: TMB SUBSTRATAS

Turinys: Tetrametilbenzidinas 0,26 mg/ml ir H_2O_2 0,01% stabilizuotas 0,05 mol/l citrato buferiniame tirpale (pH 3,8).

3 pozicija: pavyzdinis skiedinys
Turinys: Proteino tirpalas, kuriame yra 0,05 % fenolio, 0,02 % bronidokso ir indikatorius serumo buvimui nustatyti.
2 pozicija: KONJUGATAS
Sudėtis: antižmogaus IgM monokloniniai antikūnai, žymėti krienų peroksidaze, fosfatiniame buferiniame tirpale, kuriame yra 0,05 % fenolio ir 0,02 % bronidokso.
1 pozicija: TIKRAS ŠULINUKAS, į kurį operatorius turi įpilti neskiesto serumo.

KALIBRATORIUS KALIBRATORIUS **1 x 0,175 ml**
Turinys: **Tirpalas:** praskiestas žmogaus serumas, kurio antikūnų koncentracija žinoma, su proklinu ir gentamicinu, **skystis, paruoštas naudojimui**.

KONTROLĖ + POZITYVI KONTROLĖ **1 x 0,425 ml**
Turinys: **Tirpalas:** praskiestas žmogaus serumas, kurio antikūnų koncentracija žinoma, su proklinu ir gentamicinu, **skystis, paruoštas naudojimui**.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS.
- PLOVIMO BUFERINIS TIRPALAS REF 83606
- VALYMO TIRPALAS 2000 REF 83609
- DEZINFEKAVIMO TIRPALAS REF 83604 - 83608
- CHORAS NEIGIAMA KONTROLĖ / MĖGINIO SKIEDIKLIS NR. 83607
- Choras / Choras Trio Instrumentas
- Distiliuotas arba dejonizuotas vanduo
- Įprasti laboratoriniai stiklo indai: cilindrai, mėgintuvėliai ir kt.
- Mikropipetės tiksliam 50-200 µl tirpalo surinkimui
- Vienkartinės pirštinės
- Natrio hipochlorito tirpalas (5 %)
- Konteineriai potencialiai užkrečiamoms medžiagoms rinkti

5. REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentai turi būti laikomi 2/8 °C temperatūroje. Jei reagentai laikomi netinkamoje temperatūroje, kalibravimas turi būti pakartotas, o bandymas patvirtintas naudojant kontrolinį serumą (žr. 9 punktą "Bandymo patvirtinimas").
Galiojimo data yra išspausdinta ant kiekvieno komponento ir rinkinio etiketėje.

Atidarius ir (arba) paruošus reagentus, jų stabilumas yra ribotas:

ĮRENGINIAI	8 savaitės 2/8 °C temperatūroje
KALIBRATORIUS	8 savaites 2/8 °C temperatūroje
TEIGIAMA KONTROLĖ	8 savaitės 2/8 °C temperatūroje

6. PRIEMONĖS

TIK DIAGNOSTINIAM NAUDOJIMUI IN VITRO.

Dėmesio:
Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės medžiagų, kurios buvo ištirtos FDA patvirtintais metodais dėl HbsAg ir anti-HIV-1, anti-HIV-2 ir anti-HCV antikūnų ir kurių atsakas buvo neigiamas. Kadangi joks diagnostinis testas negali suteikti visiškos garantijos dėl infekcijos sukėlėjų nebuvimo, su visa žmogaus kilmės medžiaga turi būti elgiamasi kaip su potencialiai infekcine. Dirbant su žmogaus kilmės medžiaga, reikia laikytis visų atsargumo priemonių, kurios paprastai taikomos laboratorinėje praktikoje.

Atliekų šalinimas: panaudotus serumo mėginius, kalibratorius ir juosteles reikia laikyti infekciniais likučiais ir pašalinti pagal įstatymus.

Sveikatos ir saugos informacija
9. Negalima pipetuoti į burną. Dirbdami su mėginiais mūvėkite vienkartines pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones. Kruopščiai nusiplaukite rankas po to, kai įdedate prietaisus į CHORUS prietaisą.
10. Toliau išvardytuose reagentuose yra maža kenksmingų ar dirginančių medžiagų koncentracija:

e) Konjugato sudėtyje yra fenolio
f) Substratas yra rūgštis

Jei kuris nors iš reagentų pateko ant odos ar į akis, gausiai nuplaukite tą vietą vandeniu.

11. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turėtų būti nukenksminamos įpilant pakankamą kiekį natrio hipochlorito, kad galutinė koncentracija būtų ne mažesnė kaip 1,0 %. Veiksmingam nukenksminimui užtikrinti gali prireikti 30 minučių veikti 1 % natrio hipochloritu.
12. Išsiliejusias potencialiai užkrečiamas medžiagas reikia nedelsiant pašalinti adsorbcine popierine servetėle, o prieš tęsiant darbą užterštą vietą nupurkšti, pavyzdžiui, 1,0 % natrio hipochloritu. Natrio hipochlorito negalima naudoti rūgščių turinčių medžiagų išsiliejimams, nebent išsiliejimo vieta prieš tai būtų sausai nušluostyta. Medžiagos, naudojamos išsiliejimams valyti, įskaitant pirštines, turėtų būti šalinamos kaip potencialiai biologiškai pavojingos atliekos. Negalima autoklavuoti medžiagų, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito.

Analitinės atsargumo priemonės

Prieš naudodami prietaisus, kurie bus naudojami, palaikykite kambario temperatūrą (18-30 °C); naudokite per 60 min.

1. **Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) yra mėlynos spalvos.**
2. Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
3. Patikrinkite, ar prietaise yra reagentų ir ar prietaisas nepažeistas; nenaudokite prietaisų, kuriuose trūksta reagento.
4. Prietaisai skirti naudoti su prietaisu "Chorus"; būtina atidžiai laikytis naudojimo instrukcijų ir susipažinti su prietaiso naudojimo instrukcija.
5. Patikrinkite, ar teisingai nustatytas "Chorus" instrumentas (žr. "Chorus" naudojimo vadovą).
6. Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas teisingai nuskaitytų duomenis.
7. Sugedusius brūkšninius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu.
8. Laikydami ir naudodami prietaisus, nelaikykite jų stipriai apšviestų ir neapsaugokite nuo hipochlorito garų.
9. Klaidos šaltinis gali būti stipriai hemolizuoti mėginiai arba mėginiai, užteršti mikrobais.
10. Prieš įdėdami prietaisus į prietaisą patikrinkite, ar reakcijos duobutėje nėra svetimkūnių.
11. Į prietaiso 1 duobutę pipete įpilkite tiriamąjį serumą (50 µl) (žr. paveikslėlį).
12. Nenaudokite prietaiso pasibaigus galiojimo laikui.

7. MĖGINIO TIPAS IR LAIKYMAS

Mėginį sudaro serumas, paimtas įprastu būdu iš venos ir apdorotas laikantis visų atsargumo priemonių, nustatytų pagal gerą laboratorinę praktiką. Šviežias serumas gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje arba ilgesnį laiką užšaldytas -20 °C temperatūroje ir gali būti atšildomas ne daugiau kaip 3 kartus. Nelaikykite mėginių automatiškai atšildomuose šaldikliuose. Prieš naudojimą atitirpintus mėginius reikia kruopščiai suplakti. Mėginio kokybei didelę įtaką gali turėti mikrobinis užterštumas, dėl kurio gaunami klaidingi rezultatai.
Reikėtų vengti labai lipemiškų, ikterinių, hemolizuotų ar užterštų mėginių.
Bandymas negali būti taikomas plazmai.

8. PROCEDŪRA

1. Atidarykite pakuotę (iš tos pusės, kurioje yra slėginė sklendė), išimkite reikiamą prietaisų skaičių, o likusius, išleidę orą, užklijuokite maišelyje.
2. Patikrinkite prietaiso būklę pagal analitinių įspėjimų 1 ir 8 punktuose nurodytus požymius.
3. Į duobutę Nr. 1 įpilkite 50 µl neskiesto tiriamojo serumo. 1; kiekvieną kartą keičiant seriją, naudokite kalibratoriaus prietaisą.
4. Įdėkite prietaisus į prietaisą. Atlikite kalibravimą (jei reikia) ir bandymą, kaip nurodyta "Chorus" naudojimo vadove.

9. BANDYMŲ PATVIRTINIMAS

Naudokite kontrolinį serumą, kad patikrintumėte gautų rezultatų teisingumą. Jis turėtų būti naudojamas taip, kaip nurodyta naudojimo instrukcijoje. Jei prietaisas signalizuoja, kad kontrolinio serumo vertė yra už leistino intervalo ribų, kalibravimas turi būti pakartotas. Ankstesni rezultatai bus automatiškai pakoreguoti.
Jei kontrolinio serumo rezultatas ir toliau neatitinka leistino intervalo, kreipkitės į mokslinę pagalbą.

Tel: 0039 0577 319554
Faksas: 0039 0577 366605
el: scientificsupport@diesse.it

10. REZULTATŲ AIŠKINIMAS

"Chorus" prietaisas rezultatą išreiškia INDEKSU (santykis tarp tiriamojo mėginio OD vertės ir ribinės vertės), kuris gali būti naudojamas kaip kiekybinis matas, nes yra proporcingas esančiam specifinio IgM kiekiui.
Tyrimo serumą galima interpretuoti taip:

teigiamas: kai santykis yra > 1,2
NEGATYVUS: kai santykis yra < 0,8
DOUBTFUL/EQUIVOCAL: visoms reikšmėms nuo 0,8 iki 1,2

Jei rezultatas abejotinas ir (arba) neaiškus, pakartokite tyrimą. Jei tyrimas išlieka abejotinas ir (arba) vienareikšmis, po 1-2 savaičių paimkite naują mėginį.

11. PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

Gauti rezultatai gali būti naudojami tik kaip orientyras diagnozei nustatyti ir visada turi būti vertinami kartu su kitų diagnostinių procedūrų rezultatais.
Galimos kryžminės reakcijos su mėginiais, kuriuose yra antikūnų prieš E. coli.
Veikimo charakteristikos nebuvo nustatytos vizualiai interpretuojant, taip pat jos nebuvo vertinamos pacientams, sergantiems nosiaryklės karcinoma, Burkito limfoma ar kitomis su EBV susijusiomis limfadenopatijomis, išskyrus su EBV susijusią mononukleozę.
Diagnozės negalima nustatyti remiantis vienu parametru. Tiksli EBV infekcijos interpretacija turi būti pagrįsta ne tik heterofilinių antikūnų, bet ir VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG, EA IgG ed EA IgM rezultatais.
Tyrimas turi būti atliekamas su serumu. Kraujo ar plazmos naudojimas nenustatytas.

12. ANALITINIS SPECIFIŠKUMAS

Buvo ištirta 10 mėginių, kuriuose buvo neigiamas antiEA IgM ir kuriuose taip pat buvo IgM prieš kitus virusus, tokius kaip CMV, Herpes Simplex ir Varicella. Nė vienu atveju šių antikūnų buvimas netrukdė atlikti EA IgM rinkinio tyrimo.

13. DIAGNOSTINIS JAUTRUMAS IR SPECIFIŠKUMAS

Lyginant su kitu imunofermentiniu tyrimu, buvo ištirti 149 serumo mėginiai. Nustatyti tokie rezultatai: 124 neigiami mėginiai ir 20 teigiamų abiejų rinkinių.

	REFERENCIJOS RINKINYS	
	+	-
DIESSE +	20	4
-	1	124

Rinkinio specifiškumas yra 97 % (PI 95 %: 92-99), o jautrumas - 95 % (PI 95 %: 77-99).

14. TIKSLUMAS

1 lentelė. Trukmės tikslumas

	Pakartojimų skaičius	**Vidutinis indeksas**	**Šv.**	**CV%**
Partijos Nr. 024	6	3.3	0.25	8
Partijos Nr. 025	6	3.3	0.31	9
Partijos Nr. 026	9	2.0	0.13	7

2 lentelė. Tikslumas tarp partijų ir tikslumas tarp partijų

Pavyzdys	**Vidutinis indeksas**			**Vidutinis**	**Šv.**	**CV%**
	Partija 024	**tLo 025**	**Partija 026**			
EAM 1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.00	-
EAM 2	1.2	1.3	1.4	1.3	0.10	8
EAM 3	2.8	2.8	2.7	2.8	0.06	2

15. NUORODOS

1. Gorgievski H.M., Hinderer W. ir kt. Infekcinės mononukleozės serodiagnostika naudojant rekombinantinius Epšteino-Barro viruso antigenus ir fermentinio imunosorbentinio tyrimo technologiją. J. Clin. Microbiol. 28: 2305 (1990).
2. Middeldorp, J.M. ir Herbrink, P. Epšteino-Barro virusui būdingos žymenų molekulės ankstyvai infekcinės mononukleozės diagnostikai. J. Virol. Methods 21: 133-146 (1988).
3. Luka, J., Chase, R.C. ir Pearson G.R. Jautrus fermentinis imunosorbcinis tyrimas (ELISA) pagrindiniams su EBV susijusiems antigenams. I. ELISA ir imunofluorescencijos titrų koreliacija naudojant išgrynintus antigenus. J. Immunol. Methods 67: 145.156 (1984).

4. Motz, M., Fan J., Seibl R. ir Wolf H. Epstein Barr viruso 138 KDa ankstyvojo baltymo išraiška E. coli bakterijoje, siekiant naudoti jį kaip antigeną diagnostiniuose testuose. Gene 42: 303-312 (1986).

	EN IT DE ES CS	Date of manufacture Data di fabbricazione Herstellungsdatum Fecha de fabricación Datum výroby	FR EL PL RO LT	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data produkcji Pagaminimo data
	EN IT DE ES CS	Use By Utilizzare entro Verwendbar bis Fecha de caducidad Použijte do	FR EL PT PL RO LT	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Zużyć do dnia A se folosi pana la Naudoti iki
	EN IT DE ES CS	Do not reuse Non riutilizzare Nicht wieder verwenden No reutilizar Nepoužívejte znovu	FR EL PT PL RO LT	Ne pas réutiliser Μην κάνετε επαναληπτική χρήση Não reutilizar Nie używać ponownie A nu se refolosi Nenaudokite pakartotinai
	EN IT DE ES CS	Caution,consult accompanying documents Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen Atención,ver instrucciones de uso Pozor, řiďte se návodem k použití	FR EL PT PL RO LT	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Uwaga, patrz instrukcja obsługi Atentie, consultati documentele insotitoare Atsargiai, susipažinkite su pridedamais dokumentais
	EN IT DE ES CS	Manufacturer Fabbricante Hersteller Fabricante Výrobce	FR EL PT PL RO LT	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producent Productator Gamintojas
	EN IT DE ES CS	Contains sufficient for <n> tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Inhalt reicht für „n" Tests Contenido suficiente para <n> ensayos Dostatečný obsah pro „n“ testů	FR EL PT PL RO LT	Contenu suffisant pour "n"tests Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις Conteúdo suficiente para “n” ensaios Wystarczająca ilość materiału do „(liczby)” badań Continunt sufficient pt <n> teste Turi pakankamai <n> testų
	EN IT DE ES CS	Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturgrenzwerte Límite de temperatur Limity teploty	FR EL PT PL RO LT	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Granice temperatury Limita da temperatura Temperatūros apribojimas
	EN IT DE ES CS	Consult Instructions for Use Consultare le istruzioni per l'uso Die Gebrauchsanleitung lesen Consulte las instrucciones de uso Řiďte se návodem k použití	FR EL PT PL RO LT	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Należy zapoznać się z instrukcją obsługi Pentru utilizzare consultati instructiunile Žiūrėkite naudojimo instrukcijas
	EN IT DE ES CS	Biological risks Rischio biológico Biologische Gefahr Riesgo biológico Biologické riziko	FR EL PT PL RO LT	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico Zagrożenie biologiczne Risc biologic Biologinė rizika
	EN IT DE ES CS	Catalogue number Numero di catalogo Katalognummer Número de catálogo Číslo katalogu	FR EL PT PL RO LT	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numer katalogowy Numar de catalog Katalogo numeris
	EN IT DE ES CS	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Medizinisches In-vitro-Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Zdravotnický nástroj k diagnostice in vitro	FR EL PT PL RO LT	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro Dizpositiv medical pentru diagnosicare in vitro In vitro diagnostikos medicinos prietaisas

LOT	EN IT DE ES CS	Batch code Codice del lotto Chargennummer Código de lote Kód šarže	FR EL PT PL RO LT	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Kod partii Lot Partijos kodas
	EN IT DE ES CS	CE marking of conformity Marcatura CE di conformità CE-Konformitat Skenneichnung Marcado CE de conformidad Označení shody CE	FR EL PT PL RO LT	Marquage de conformité CE Σημανση συμμορφωσησ CE Marcação CE de conformidade Oznakowanie zgodności CE Marcajul de conformitate CE CE ženklinimas