

CHORUS

Borrelia IgG



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.

Via delle Rose, 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy

REF 81046/C03

	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	14 – 15 – 17





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Borrelia IgG

**Per la determinazione qualitativa degli anticorpi
IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu**

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico di terza generazione per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu nel siero e plasma citrato umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La malattia di Lyme (Borreliosi) è una malattia infettiva multi sistemica causata dal batterio Borrelia burgdorferi appartenente alla famiglia delle Spirochete.

L'infezione viene trasmessa all'uomo dalla puntura di zecche del genere Ixodes e la malattia può essere divisa in tre fasi cliniche: precoce localizzata, precoce disseminata e tardiva persistente. Nella prima fase compare, in circa due terzi dei pazienti, un eritema cutaneo accompagnato da sintomi simil influenzali; nella seconda, che occorre dopo settimane o mesi, l'infezione si dissemina nel sangue e nel sistema linfatico provocando disturbi muscolo scheletrici e neurologici. La fase tardiva si manifesta dopo mesi o anni e può provocare acrodermatite cronica atrofica (ACA), neuroborreliosi croniche, poliartriti.

La diagnosi della Borreliosi è basata sull'anamnesi, sul quadro clinico e sui risultati dei test di laboratorio.

La produzione anticorpale può essere estremamente lenta nella fase precoce della malattia; dall'altra parte gli anticorpi possono persistere per più di dieci anni.

Titoli elevati di IgG con una concentrazione di IgM bassa o nulla si presentano quando la borreliosi è in via di guarigione o durante lo stadio cronico.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Borrelia IgG è un metodo immunoenzimatico di terza generazione pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu con alte sensibilità e specificità diagnostiche, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con campione diluito.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi anti-IgG umane coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel campione in esame.

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi 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, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

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

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare la busta contenente i dispositivi a temperatura ambiente (18-30°C) per almeno 30 minuti. Utilizzare i dispositivi entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse (<http://www.diesse.it/Support/Download/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, di plasma con anticoagulanti diversi dal citrato, o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

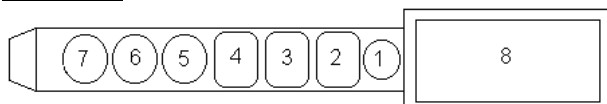
5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 30 determinazioni

DD DISPOSITIVI:

- 1 confezione da 6 dispositivi per calibrazione
- 4 confezioni da 6 dispositivi ciascuna per campione

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Combinazione di antigeni ricombinanti: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagelin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 e NapA delle specie del gruppo Borrelia burgdorferi sensu lato.

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione tampone proteica a pH 7.1

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi anti-IgG umane marcati con perossidasi.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il campione non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.150 mL

Contenuto: Tampone contenente anticorpi IgG anti-Borrelia burgdorferi. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.250 mL

Contenuto: Tampone contenente anticorpi IgG anti-Borrelia burgdorferi. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

Il campione fresco può essere mantenuto per una settimana 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. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.2

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.8

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2

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

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. CROSS-REATTIVI

La diagnosi sierologica è resa difficile dall'ampia diversità genetica della specie *Borrelia burgdorferi*, dalle possibili cross reazioni con antigeni estranei e dall'abbondanza di *Borrelia heat shock proteins*.

31 campioni, positivi a Cytomegalovirus, Treponema, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Fattore Reumatoide ed ANA sono stati testati.

Non è possibile escludere reazioni crociate di anticorpi diretti contro Cytomegalovirus e Epstein-Barr virus in fase acuta.

13. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 86 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Totale	79	7	86

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 1.00.

14. SENSIBILITÀ DIAGNOSTICA

88 campioni di pazienti in varie fasi della malattia sono stati analizzati.

I campioni provenivano da soggetti clinicamente classificati nelle varie fasi della malattia, successivamente caratterizzati con il kit.

Di seguito sono schematizzati i dati ottenuti:

Fase della malattia	Campioni	Sensibilità Diagnostica (%)	CI _{95%}
Eritema migrans (Fase I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborreliosi (Fase II)	32	96.9	84.2-99.3
Artrite di Lyme (Fase III)	27	100	87.5-99.8

15. SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA

100 campioni di donatori sani sono stati analizzati.

I campioni utilizzati per il test provenivano da soggetti Europei, residenti in un'area geografica (Italia centrale) non endemica a bassa sieroprevalenza (< 20 casi all'anno).

Di seguito sono schematizzati i dati ottenuti:

Specificità Diagnostica (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta	
	Media (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Campione	Tra sedute	
	Media (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

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

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

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

17. BIBLIOGRAFIA

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years

after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5

3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235-60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickstein, Jodie A. Field, Gail McHugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437-7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Borrelia IgG

For the qualitative determination of anti-Borrelia burgdorferi sensu latu IgG antibodies

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Third generation immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgG class antibodies against *Borrelia burgdorferi sensu latu* in human serum and human citrate plasma, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Lyme disease (Borreliosis) is a multi-systemic infectious disease caused by *Borrelia burgdorferi* bacteria belonging to the Spirochaete family.

The infection is transmitted to humans by the bite of ticks of the Ixodes genus and it can be divided in three clinical phases: early localized infection, early disseminated infection, late disseminated infection. During the first phase about two-thirds of patients develop a skin erythema together with flu-like symptoms. During the second phase, which occurs after weeks or months, the infection spreads through the bloodstream and the lymphatic system causing muscle-skeletal and neurological disorders. The late phase occurs after months or years and can provoke acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), chronic neuroborreliosis, polyarthritits.

The diagnosis of Borreliosis is based on the patient history, clinical picture and results of laboratory tests.

The antibody production can be extremely slow during the early phase of the disease; on the other hand the antibodies may remain for more than ten years.

High IgG titers with a low or absent IgM concentration appear during the phase of recovery or during the chronic stage.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Borrelia IgG device is a third generation immunoenzymatic method ready to use for the detection of IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi sensu latu* with high diagnostic sensitivity and specificity, in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). The antigen is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted sample.

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

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response 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: samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

Before use bring the package containing the devices to room temperature (18-30°C) for 30 minutes at least.

Use within 60 minutes.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument, the Instructions for Use must be carefully

followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.

The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed and lipemic samples, of plasma with anticoagulants different from citrate or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

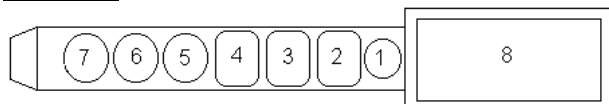
5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 30 tests.

DD DEVICES

- 1 package each containing 6 devices for calibration
- 4 packages each containing 6 devices for sample

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Combination of recombinant antigens: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagelin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 and NapA of Borrelia burgdorferi sensu lato species.

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: Proteic buffer solution at pH 7.1

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgG antibodies labelled with peroxidase.

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted sample

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.150 mL

Contents: Buffer containing anti-Borrelia burgdorferi IgG antibodies. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.250 mL

Contents: Buffer containing anti-Borrelia burgdorferi IgG antibodies. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

The fresh sample may be stored for a week at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

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.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 50 µl of undiluted calibrator in well no. 1 of a device for calibration (yellow label) and 50 µl of undiluted positive control in well no. 1 of another device for calibration (yellow label); repeat at each change of batch.
4. Dispense 50 µl of undiluted test sample in well no. 1 of each device for sample (white label).

5. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

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

POSITIVE: when the result is > 1.2

NEGATIVE: when the result is < 0.8

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.8 and 1.2

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

11. LIMITATIONS

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

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

12. CROSS-REACTIONS

The serological diagnosis is difficult because of the wide genetic range of the *Borrelia burgdorferi* species, the possible cross-reactions with extraneous antigens and the abundance of *Borrelia* heat shock proteins.

31 samples, positive to Cytomegalovirus, Treponema, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Rheumatoid Factor and ANA, have been tested.

It is not possible to exclude cross-reactions of antibodies directed against Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in acute phase.

13. METHOD COMPARISON

In an experimentation 86 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Total	79	7	86

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):
100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):
100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 1.00.

14. DIAGNOSTIC SENSITIVITY

88 samples from patients at different stages of the disease have been analysed.

The samples were from subjects clinically classified in the different stages of the disease, subsequently characterized with the kit.

The obtained data are summarized in the table below:

Stage of the disease	Samples	Diagnostic Sensitivity (%)	CI _{95%}
Erythema migrans (Stage I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborreliosis (Stage II)	32	96.9	84.2-99.3
Lyme Arthritis (Stage III)	27	100	87.5-99.8

15. DIAGNOSTIC SPECIFICITY

100 samples from healthy donors have been analysed.

The samples were from European subjects, living in a not endemic geographic area (central Italy) with low seroprevalence (< 20 cases per year).

The obtained data are summarized in the table below:

Diagnostic Specificity (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run	
	Mean (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Sample	Between run	
	Mean (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

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

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (Index)	CV%	Mean (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

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

17. REFERENCES

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235–60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to *Borrelia burgdorferi*. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickestein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to *Borrelia burgdorferi* Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437–7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Borrelia IgG

PRO kvalitativní STANOVENÍ IgG ANTI-Borrelia burgdorferi sensu latu PROTILÁTEK

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda třetí generace ke kvalitativnímu stanovení IgG protilátek proti *Borrelia burgdorferi* sensu latu v lidském séru a citrátové plazmě za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Lymeská nemoc (borelióza) je multisystémové infekční onemocnění způsobené bakterií *Borrelia burgdorferi*, která se řadí do kmene spirochet.

Infekce se přenáší na člověka kousnutím klíštěte rodu *Ixodes* a klinické projevy onemocnění se dělí do tří stádií: časně lokalizované stádium, časně diseminované stádium a pozdní stádium. V prvním stádiu se zhruba u dvou třetin pacientů objevuje kožní zánět doprovázený chřipkovými příznaky; v druhém stádiu, které nastává po několika týdnech nebo měsících, se infekce šíří do krve a do lymfatického systému a způsobuje poruchy kosterních svalů a neurologické poruchy. Pozdní stádium se projevuje po několika měsících nebo letech a může způsobit chronickou atrofickou akrodermatitidu (ACA), chronickou neuroboreliózu či polyartritidu.

Diagnostika boreliózy je založena na anamnéze, klinickém obrazu a výsledcích laboratorních testů.

V časném stádiu onemocnění může být tvorba protilátek extrémně pomalá; na druhé straně mohou protilátky přetrvávat více než deset let.

Během rekonvalescence nebo v chronickém stádiu boreliózy se vyskytují vysoké titry IgG protilátek s nízkou nebo nulovou koncentrací IgM.

3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus *Borrelia* IgG je imunoenzymatickou metodou třetí generace a je připraven k použití v zařízeních Chorus / Chorus TRIO pro stanovení IgG protilátek proti *Borrelia burgdorferi* sensu latu s vysokou diagnostickou citlivostí a specifičností.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny se vážou na antigen po inkubaci se zředěným vzorkem.

Po vymytí za účelem odstranění proteinů, které nezreagovaly, se provádí inkubace s konjugátem složeným z lidských protilátek anti-IgG konjugovaných s křenuvou peroxidázou. Dochází k eliminaci nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Modré zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve zkoumaném vzorku. Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagentie potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

- Nepipetujte ústy.
- Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
- Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
- Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentií obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
- Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
- Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Před použitím přiveďte sáček se zařízeními na okolní teplotu (18–30°C) na dobu minimálně 30 minut.

Zařízení použijte do 60 minut.

- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagentie a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagentie, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.

16. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus/Chorus TRIO, je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.

Používání sady je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Zkontrolujte, jestli nainstalovaný software odpovídá či jestli má Release (Rel.) vyšší než je ten, který je uveden v tabulce zveřejněné na stránkách Diesse

(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
20. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
21. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
22. Zdrojem chyb může být použití vysoce hemolyzovaných a lipemických vzorků a vzorků plazmy s jinými antikoagulanty než citrát nebo vzorků, které vykazují mikrobiální kontaminaci.
23. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
24. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

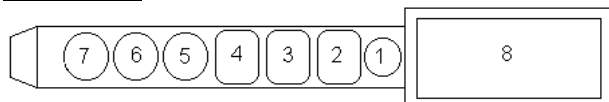
5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 30 stanovení.

DD NÁSTROJE:

- 1 balení po 6 nástrojích pro kalibraci
- 4 balení po 6 nástrojích pro vzorky

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Kombinace rekombinantních antigenů: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagelin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 a NapA druhů skupiny Borrelia burgdorferi sensu lato.

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Proteinový pufr s pH 7.1

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: Antilidské IgG protilátky značené křenovou peroxidázou.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neřaděný vzorek.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.150 mL

Obsahuje: Pufr obsahující IgG protilátky proti Borrelia burgdorferi. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0.250 mL

Obsahuje: Pufr obsahující IgG protilátky proti Borrelia burgdorferi. Tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Typově se jedná o vzorek séra nebo citrátové plazmy získaný z krve odebrané běžným vpichem do žíly a zpracovaný v souladu se standardními laboratorními postupy.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvý vzorek lze uchovávat po dobu jednoho týdne při teplotě 2–8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu –20°C.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

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

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 nástroje pro kalibraci (žlutý štítek) dejte 50 µl neřaděného kalibrátoru a do jamky č. 1 druhého nástroje pro kalibraci (žlutý štítek) dejte 50 µl neřaděné pozitivní kontroly; opakujte při každé změně šarže.

- Do jamky č. 1 každého nástroje pro vzorky (bílý štítek) dejte 50 µl neředěného vzorku, který má být analyzován.
- Umístěte nástroje do zařízení Chorus/zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení hlásí, že kontrola vykazuje hodnotu mimo přijatelné rozmezí, je zapotřebí znovu provést kalibraci. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Test na zkoumaném vzorku lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1.2

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0.8

**SPORNÝ/NEJASNÉ: PRO VŠECHNY
HODNOTY MEZI 0.8 a 1.2**

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

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Sérologickou diagnostiku ztěžuje značná genetická diverzita rodu *Borrelia burgdorferi*, možné zkřížené reakce s cizími antigeny a hojný výskyt boreliových proteinů teplotního šoku. Byly testovány 31 vzorky pozitivní na Cytomegalovirus, *Treponema*, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Revmatoidní Faktor pozitivní na ANA. Nelze vyloučit křížové reakce přímých protilátek proti Cytomegaloviru na Epstein-Barr viru v akutní fázi.

13. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 86 Vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy. Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Celkem	79	7	86

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Negativní shoda v procentech (~ diagnostická specifita):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s un valore di K (Cohenův koeficient) dosahující 1.00.

14. DIAGNOSTICKÁ SENZITIVITA

Bylo analyzováno 88 vzorků od pacientů v různých stadiích onemocnění.

Vzorky pocházely od subjektů klinicky klasifikovaných v různých stadiích onemocnění, následně byly charakterizovány soupravou.

Získané výsledky shrnuje následující tabulka:

Fáze onemocnění	Vzorky	Citlivost Diagnostika (%)	CI _{95%}
Erythema migrans (Fáze I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborelióza (Fáze II)	32	96.9	84.2-99.3
Lymeská artritida (Fáze III)	27	100	87.5-99.8

15. DIAGNOSTICKÁ SPECIFITA

Bylo analyzováno 100 vzorků od zdravých dárců.

Vzorky použité k testování pocházely od evropských subjektů žijících v neendemické zeměpisné oblasti (střední Itálie) s nízkou séroprevalencí (< 20 případů ročně).

Získané výsledky shrnuje následující tabulka:

Specificita Diagnostika (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření	
	Průměr (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Vzorek	Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

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

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (Index)	CV%	Průměr (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

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

17. REFERENČNÍ LITERATURA

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5.
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235–60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis.
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to *Borrelia burgdorferi*. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34.
6. Austin Vaz, Lisa Glickestein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to *Borrelia burgdorferi*. Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437–7444.
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Borrelia IgG

Zur qualitativen Bestimmung von Anti-Borrelia burgdorferi sensu latu IgG Antikörpern

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

9. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren der dritten Generation zur qualitativen Bestimmung von Anti-Borrelia burgdorferi sensu latu Antikörpern der Klasse IgG in humanem Serum- und Plasma-Zitrat mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

10. EINLEITUNG

Die Lyme-Krankheit (Borreliose) ist eine multisystemische Infektionskrankheit, die durch das Bakterium Borrelia burgdorferi aus der Gruppe der Spirochäten ausgelöst wird.

Die Infektion wird vor allem durch Stiche von Zecken der Gattung Ixodes an den Menschen übertragen und kann in drei klinische Stadien unterteilt werden: frühes lokalisierendes Stadium, frühes disseminiertes Stadium und spätes persistentes Stadium. Im ersten Stadium tritt bei circa zwei Dritteln der Patienten ein Hauterythem auf, das von grippeähnlichen Symptomen begleitet wird; im zweiten Stadium, das nach Wochen oder Monate eintritt, breitet sich die Infektion im Blut- und Lymphsystem aus und verursacht Muskelschmerzen und neurologische Beschwerden. Das Spätstadium tritt nach Monaten oder Jahren ein und kann Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), chronische Neuroborreliose, Polyarthritiden verursachen.

Die Diagnose der Borreliose basiert auf der Anamnese, dem klinischen Bild und den Ergebnissen der Labortests.

Im Frühstadium der Krankheit kann die Bildung von Antikörpern äußerst langsam erfolgen; andererseits können die Antikörper über zehn Jahre andauern.

Eine hoher Gehalt an IgG-Antikörpern mit einer niedrigen oder nicht vorhandenen IgM-Konzentration wird während der Heilungsphase der Borreliose oder im chronischen Stadium nachgewiesen.

11. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Borrelia IgG ist ein gebrauchsfertiges Enzymimmunoassay-Verfahren für die Bestimmung von Anti-Borrelia burgdorferi sensu latu IgG-Antikörpern mit hoher diagnostischer Sensitivität und Spezifität in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das Antigen wird an die Festphase gebunden.

In Folge der Inkubation mit verdünnter Probe binden die spezifischen Immunglobuline an das Antigen. Nach dem

Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten Anti-human-IgG-Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der blauen Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper in der untersuchten Probe.

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

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Index (OD-Wert Probe/OD-Wert Cut-off).

12. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, 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 Proben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
10. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
11. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1% ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1% igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
12. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1% igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde.

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

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Vor dem Gebrauch den Beutel mit den Vorrichtungen für mindestens 30 Minuten auf Umgebungstemperatur (18–30°C) erwärmen.

Verwenden Sie die Vorrichtungen innerhalb von 60 Minuten.

13. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.

14. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.

15. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.

16. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator, verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.

Die Verwendung des Kits ist nur mit einer aktualisierten Version der Software möglich. Stellen Sie sicher, dass die im Gerät installierte Software identisch ist oder eine neuere Version (Rel.) aufweist als in der auf der Diesse-Website veröffentlichten Tabelle
(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

17. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).

18. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.

19. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.

20. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).

21. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.

22. Stark hämolytische, lipämische Proben, Plasmaproben mit anderen Antikoagulanzen als Citrat oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.

23. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

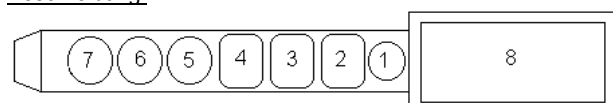
24. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist.**

13. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 30 Bestimmungen.

DD TESTMODULE:

- 1 Packung mit je 6 Testmodulen zur Kalibrierung
- 4 Packungen mit je 6 Testmodulen, jede als Probe

Beschreibung:

Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Kombination rekombinanter Antigene: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internes Flagellin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 und NapA der Spezies der Gruppe Borrelia burgdorferi sensu lato.

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Pufferlösung mit pH 7.1

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte Anti-human-IgG Antikörper.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener die unverdünnte Probe geben.

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.150 mL

Inhalt: Puffer mit Anti-Borrelia burgdorferi IgG-Antikörpern. Flüssig, gebrauchsfertig

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.250 mL

Inhalt: Puffer mit Anti-Borrelia burgdorferi IgG-Antikörpern. Flüssig, gebrauchsfertig

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator
- 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

14. 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 der positiven Kontrolle überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

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

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

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

15. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

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

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Die frische Probe kann eine Woche lang bei 2–8°C aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei 20°C eingefroren.

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

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

16. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 des Kalibriermoduls (gelbes Etikett) 50 µl des unverdünnten Kalibrators geben und in die Vertiefung 1 eines anderen Kalibriermoduls (gelbes Etikett) 50 µl der unverdünnten positiven Kontrolle geben; bei jedem Chargenwechsel wiederholen.
4. In die Vertiefung 1 jeder Proben testmoduls (weißes Etikett) 50 µl der zu analysierenden, unverdünnten Probe geben.
5. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO 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 die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test der untersuchten Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis > 1.2

NEGATIV: bei Ergebnis < 0.8

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 0.8 und 1.2

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt bzw. mehrdeutig ist. Bleibt das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig, die Probenahme wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

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

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

12. KREUZREAKTIONEN

Die serologische Diagnose wird durch die umfangreiche genetische Diversität der Spezies *Borrelia burgdorferi*, mögliche Kreuzreaktionen mit fremden Antigenen und einer Abundanz von *Borrelia*-Hitzeschockproteinen erschwert.

Es wurden 31 positive Proben Cytomegalovirus, Treponema, Herpes-simplex-Virus, Epstein-Barr-Virus, Rheumafaktor und ANA getestet.

Kreuzreaktionen direkter Antikörper gegen Cytomegalovirus und Epstein-Barr-Virus im Akutstadium können nicht ausgeschlossen werden.

13. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 86 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Insgesamt	79	7	86

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Negative Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 1.00 optimal.

14. DIAGNOSTISCHE SENSIVITÄT

Es wurden 88 Proben von Patienten in unterschiedlichen Stadien der Krankheit analysiert.

Die Proben stammten von Patienten, die klinisch in die verschiedenen Stadien der Krankheit klassifiziert und anschließend mit dem Kit charakterisiert wurden.

Anschließend werden die gewonnenen Daten schematisch dargestellt:

Stadium der Krankheit	Proben	Diagnostische Sensitivität (%)	CI _{95%}
Erythema migrans (Stadium I)	29	72.4	54.2-85.2

Neuroborreliose (Stadium II)	32	96.9	84.2-99.3
Lyme-Arthritis (Stadium III)	27	100	87.5-99.8

15. DIAGNOSTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 100 Proben von gesunden Spendern analysiert. Die für den Test verwendeten Proben stammten von Europäern, deren Wohnort sich in einem nicht-endemischen geographischen Gebiet (Mittelitalien) mit niedriger Seroprävalenz (<20 Fälle pro Jahr) befindet.

Anschließend werden die gewonnenen Daten schematisch dargestellt:

Diagnostische Spezifität (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs	
	Mittelwert (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Probe	Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

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

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (Index)	CV%	Mittelwert (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

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

17. LITERATUR

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235-60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.

4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickstein, Jodie A. Field, Gail McHugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437-7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Borrelia IgG

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG αντι-Borrelia burgdorferi
sensu latu**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος τρίτης γενιάς για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG αντι-Borrelia burgdorferi sensu latu σε ανθρώπινο ορό και πλάσμα με κιτρικό αντιπηκτικό, χρησιμοποιώντας συσκευή μίας χρήσης σε συνδυασμό με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νόσος του Lyme (βορρελίωση) είναι μία πολυσυστηματική λοιμώδης ασθένεια που προκαλείται από το βακτήριο Borrelia burgdorferi, το οποίο ανήκει στην οικογένεια των σπειροχαιτών. Η λοίμωξη μεταδίδεται στον άνθρωπο μετά από τσίμπημα κρότωννα του γένους Ixodes, και η νόσος μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τρία κλινικά στάδια: πρώιμη εντοπισμένη, πρώιμη διάχυτη και όψιμη επίμονη. Στο πρώτο στάδιο εμφανίζεται ένα δερματικό ερύθημα, περίπου στα δύο τρίτα των ασθενών, που συνοδεύεται από συμπτώματα παρόμοια με της γρίπης. Στο δεύτερο στάδιο, μετά από εβδομάδες ή μήνες, η λοίμωξη εξαπλώνεται στο αίμα και στο λεμφικό σύστημα, προκαλώντας μυοσκελετικές και νευρολογικές διαταραχές. Το όψιμο στάδιο εκδηλώνεται μετά από μήνες ή χρόνια και μπορεί να προκαλέσει χρόνια ατροφική ακροδερματίτιδα (XAA), χρόνια νευροβορρελίωση και πολυαρθρίτιδα.

Η διάγνωση της βορρελίωσης βασίζεται στο κλινικό ιστορικό, στην κλινική εξέταση και στα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων του ασθενή.

Η παραγωγή αντισωμάτων μπορεί να είναι εξαιρετικά αργή στο πρώιμο στάδιο της νόσου. Από την άλλη πλευρά, τα αντισώματα μπορεί να παραμένουν στον οργανισμό περισσότερο από δέκα χρόνια.

Αυξημένοι τίτλοι IgG με χαμηλή ή μηδενική συγκέντρωση IgM παρουσιάζονται στο στάδιο της ίασης από τη νόσο ή στη χρόνια νόσο.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η συσκευή Chorus Borrelia IgG είναι μία ανοσοενζυμική μέθοδος τρίτης γενιάς για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι Borrelia burgdorferi sensu latu, με υψηλή διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα, έτοιμη για χρήση με τους αναλυτές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Το αντιγόνο στερεώνεται στη στερεά

φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες δεσμεύονται στο αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο δείγμα.

Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το συζυγές που αποτελείται από ανθρώπινα αντισώματα αντι-IgG συζευγμένων με υπεροξειδάση ραφανίδων.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των συγκεκριμένων αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα που εξετάζεται.

Τα σετ ζ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ, όταν εφαρμόζονται στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Δείκτης (Index) (DO δείγμα/DO cut-off).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά, για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσμένο. Τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να τα χειρίζεστε όλα σύμφωνα με τους κανονισμούς ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Διάθεση καταλοίπων: τα δείγματα, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσμένα κατάλοιπα και επομένως να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε προσεκτικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ συμβουλευτείτε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμη κατόπιν αιτήματος).
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγραφεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην

βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν τη χρήση, μεταφέρετε τον πλαστικό φάκελο που περιέχει τις συσκευές σε θερμοκρασία δωματίου (18-30°C) για 30 τουλάχιστον λεπτά.

Χρησιμοποιήστε τις συσκευές μέσα σε 60 λεπτά.

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ιδίου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που έχει εγκατασταθεί στον αναλυτή έχει την ίδια ή μεταγενέστερη ημ/νία έκδοσης (Rel.) από την αναφερόμενη ημ/νία στον κατάλογο που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Εάν χρησιμοποιηθούν δείγματα με υψηλό βαθμό αιμόλυσης ή λιπαιμίας, δείγματα πλάσματος με άλλο αντιπηκτικό εκτός κιτρικού, ή δείγματα με μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης
12. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.**

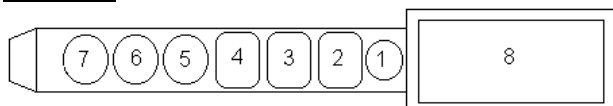
5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ KIT ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 30 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ:

- 1 συσκευασία με 6 συσκευές για βαθμονόμηση
- 4 πακέτα των 6 συσκευές για δείγμα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Συνδυασμός ανασυνδυασμένων αντιγόνων: VlsE (B. Afzelii, B. garinii, B. Burgdorferi υπό αυστηρή περιορισμένη έννοια), p83, p58, εσωτερική flagelin-p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. Garinii), OspB, OspC), OspE, p17 και NapA των βακτηριακών ειδών της ομάδας *Borrelia burgdorferi* υπό την ευρεία έννοια.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7.1

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα αντισώματα αντι-IgG μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ ο χειριστής πρέπει να τοποθετήσει το μη αραιωμένο δείγμα.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.150 mL

Περιεχόμενο: Ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει αντισώματα IgG αντί-*Borrelia burgdorferi*. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.250 mL

Περιεχόμενο: Ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει αντισώματα IgG αντί-*Borrelia burgdorferi*. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- Συσκευή Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που διατηρήθηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος μέσω του θετικού μάρτυρα (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

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

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία:

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι ορός ή πλάσμα με κιτρινό αντιπηκτικό, που προέρχονται από αίμα που έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαρακέντηση και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις από την χρησιμοποίηση άλλων βιολογικών υγρών.

Το νωπό δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για μία εβδομάδα στους 2/8°C; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξετε στους -20°C. Αποφεύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για την διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.

Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από την μικροβιακή μόλυνση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Στην κυψελίδα αρ. 1 μιας συσκευής βαθμονόμησης (κίτρινη ετικέτα) τοποθετήστε 50 μl μη αραιωμένου βαθμονομητή, και στην κυψελίδα αρ. 1 μιας άλλης συσκευής βαθμονόμησης (κίτρινη ετικέτα), τοποθετήστε 50 μl μη αραιωμένου θετικού μάρτυρα. Επαναλάβετε με κάθε αλλαγή παρτίδας.
4. Στην κυψελίδα αρ. 1 κάθε συσκευής δείγματος (λευκή ετικέτα) τοποθετήστε 50 μl μη αραιωμένου δείγματος προς ανάλυση.
5. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήστη της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον θετικό μάρτυρα για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.

Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του μάρτυρα βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του θετικού μάρτυρα 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 ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Index (DO δείγμα/DO cut-off).

Το τεστ στον ορό υπό εξέταση μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1.2

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 0.8

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 0.8 και 1.2

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές επαναλάβετε την αιμοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

12. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Η ορολογική διάγνωση παρουσιάζει δυσκολίες λόγω της μεγάλης γενετικής διαφοροποίησης του γένους *Borrelia burgdorferi*, λόγω δυνητικών διασταυρούμενων αντιδράσεων με ξένα αντισώματα και λόγω της πληθώρας πρωτεϊνών θερμικού σοκ της *Borrelia*.

Έχουν εξετασθεί 31 δείγματα, θετικά στους Ιούς Cytomegalovirus, Treponema, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Fattore Reumatoide και ANA.

Δεν είναι δυνατόν να αποκλειστούν διασταυρούμενες αντιδράσεις αντισωμάτων που κατευθύνονται κατά του Ιού Cytomegalovirus και Epstein-Barr virus στην οξεία φάση.

13. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 86 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Σύνολο	79	7	86

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός με τιμή K (συντελεστής Cohen) 1.00.

14. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Αναλύθηκαν 88 δείγματα ασθενών σε διάφορα στάδια της νόσου.

Τα δείγματα προέρχονταν από άτομα κλινικά ταξινομημένα σε διάφορα στάδια της νόσου, που στη συνέχεια ελέγχθηκαν με το kit.

Τα δεδομένα που ελήφθησαν συνοψίζονται παρακάτω:

Φάση της νόσου	Δείγματα	Ευαισθησία Διαγνωστικό (%)	CI _{95%}
Ερύθημα migrans (μεταναστευτικό)	29	72.4	54.2-85.2

(Φάση I)			
Neuroborreliosis (νευρο-μπορελίωση) (Φάση II)	32	96.9	84.2-99.3
Αρθρίτιδα (λόγω έλλειψης) ασβεστίου (Φάση III)	27	100	87.5-99.8

15. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αναλύθηκαν 100 δείγματα από υγιείς δότες.

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση προέρχονταν από άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής, που κατοικούν σε μη ενδημική γεωγραφική περιοχή (κεντρική Ιταλία) με χαμηλό ποσοστό οροεπιπολασμού (<20 περιστατικά τον χρόνο).

Τα δεδομένα που ελήφθησαν συνοψίζονται παρακάτω:

Ειδικότητα Διαγνωστικό (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα		
	Μέση Τιμή (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Δείγμα	Μεταξύ Διαδικασιών	
	Μέση Τιμή (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

*ΤΕΧΝΑΣΜΑ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΟ ΣΤΟ ΓΝΩΣΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΠΟΥ ΚΑΘΙΣΤΑΤΑΙ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΣ ΣΕ ΑΛΛΑΓΕΣ (ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΣΕ ΠΟΛΥ ΜΙΚΡΕΣ), ΟΤΑΝ Η ΤΙΜΗ ΤΩΝ ΜΕΣΩΝ ΕΙΝΑΙ ΚΟΝΤΑ ΣΤΟ ΜΗΔΕΝ.

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή (Index)	CV%	Μέση Τιμή (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

*ΤΕΧΝΑΣΜΑ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΟ ΣΤΟ ΓΝΩΣΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΠΟΥ ΚΑΘΙΣΤΑΤΑΙ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΣ ΣΕ ΑΛΛΑΓΕΣ (ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΣΕ ΠΟΛΥ ΜΙΚΡΕΣ), ΟΤΑΝ Η ΤΙΜΗ ΤΩΝ ΜΕΣΩΝ ΕΙΝΑΙ ΚΟΝΤΑ ΣΤΟ ΜΗΔΕΝ.

17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5

3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235–60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickstein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437–7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe : influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.

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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Borrelia IgG

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu lato

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático de tercera generación para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu lato en suero y plasma citrato humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Lyme (borreliosis) es una enfermedad infecciosa multisistémica causada por la bacteria Borrelia burgdorferi, que pertenece a la familia de las espiroquetas.

La infección se transmite al ser humano mediante la picadura de garrapatas del género Ixodes y tiene tres fases clínicas: enfermedad temprana y localizada, enfermedad de diseminación temprana y enfermedad de diseminación tardía. En cerca de dos tercios de los pacientes, la primera etapa se caracteriza por la presencia de un eritema acompañado de síntomas seudogripales. La segunda fase, en la que la infección se propaga a la sangre y al sistema linfático, tiene lugar después de varias semanas o meses y provoca trastornos musculoesqueléticos y neurológicos. La fase tardía se manifiesta después de meses o años y puede provocar acrodermatitis crónica atrófica (ACA), neuroborreliosis crónica y poliartritis.

El diagnóstico de la borreliosis se basa en la anamnesis, el cuadro clínico y los resultados de análisis de laboratorio.

Aunque la producción de anticuerpos puede ser extremadamente lenta en la fase precoz de la enfermedad, los anticuerpos pueden persistir durante más de diez años.

Los valores elevados de IgG con concentración de IgM baja o nula son característicos de la fase de curación o de la fase crónica de la enfermedad.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Borrelia IgG es un método inmunoenzimático de determinación de anticuerpos IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu lato de tercera generación y alta sensibilidad y especificidad diagnósticas que está listo para utilizarse en equipos Chorus/Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida. Las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno tras la incubación de la muestra diluida.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado,

compuesto por anticuerpos anti-IgG humanos conjugados con peroxidasa de rábano.

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

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Antes del uso, dejar la bolsa con los dispositivos a temperatura ambiente (18-30°C) durante al menos 30 minutos; 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 fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, de plasma con anticoagulante distinto del citrato o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

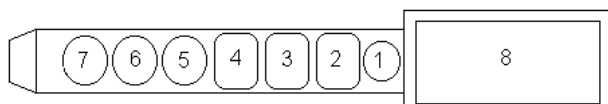
5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 30 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS:

- 1 envase con 6 dispositivos cada uno para calibración
- 4 envases con 6 dispositivos cada uno para muestra

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Combinación de antígenos recombinantes: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagellin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 y NapA de las especies del grupo Borrelia burgdorferi sensu lato.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Tampón proteico con pH 7.1

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos anti-IgG humanos marcados con peroxidasa.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa la muestra sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.150 mL

Contenido: Tampón que contiene anticuerpos IgG anti-Borrelia burgdorferi. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.250 mL

Contenido: Tampón que contiene anticuerpos IgG anti-Borrelia burgdorferi. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

La muestra recién obtenida puede conservarse a 2/8°C durante una semana; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

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

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de calibrador diluido en el pocillo n°1 de un dispositivo de calibración (etiqueta amarilla) y 50 µl de control positivo sin diluir en el pocillo n°1 de otro dispositivo de calibración (etiqueta amarilla). Repetir cada vez que se cambie el lote.
4. Dispensar 50 µl de la muestra sin diluir que se va a analizar en el pocillo n°1 de cada dispositivo de muestras (etiqueta amarilla).
5. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el 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 control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

La prueba en la muestra examinada se puede interpretar de la manera siguiente:

POSITIVO: cuando el resultado es > 1.2

NEGATIVO: cuando el resultado es < 0.8

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está entre 0.8 y 1.2

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

11. LIMITACIONES

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

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar

junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. REACCIONES CRUZADAS

La gran diversidad genética de la especie *Borrelia burgdorferi*, las posibles reactividad cruzada con antígenos extraños y la abundancia de proteínas de choque térmico de *Borrelia* dificultan el diagnóstico serológico.

31 muestras, positivas en Cytomegalovirus, Treponema, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Factor Reumatoide y ANA fueron testadas.

No se pueden excluir reacciones cruzadas de anticuerpos dirigidos contra Cytomegalovirus y Epstein-Barr virus en fase aguda.

13. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 86 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Total	79	7	86

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y, con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.00.

14. SENSIBILIDAD DIAGNÓSTICA

Se han analizado 88 muestras de pacientes en distintas fases de la enfermedad.

Las muestras se obtuvieron de sujetos clasificados clínicamente en las distintas fases de la enfermedad y que posteriormente se caracterizaron con el kit.

A continuación se muestran los resultados obtenidos:

Fase de la enfermedad	Muestras	Sensibilidad Diagnóstico (%)	CI _{95%}
Eritema migrans (Fase I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborreliosis (Fase II)	32	96.9	84.2-99.3
Artritis de Lyme (Fase III)	27	100	87.5-99.8

15. ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA

Se han analizado 100 muestras de donantes sanos.

Las muestras utilizadas para la prueba se obtuvieron de sujetos europeos, residentes en un área geográfica (Italia central) no endémica y de baja seroprevalencia (< 20 casos al año).

A continuación se muestran los resultados obtenidos:

Especificidad	CI _{95%}
---------------	-------------------

Diagnóstico (%)	
98.0	93.0-99.4

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO	
	Media (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Muestra	ENTRE ENSAYOS	
	Media (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

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

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

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

17. BIBLIOGRAFÍA

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235-60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickestein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437-7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS Borrelia IgG

Pour la détermination qualitative des anticorps IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique de troisième génération pour la détermination qualitative des anticorps de classe IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu dans le sérum et plasma citraté humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

La maladie de Lyme (Borréliose) est une maladie infectieuse multi-systémique provoquée par la bactérie Borrelia Burgdorferi appartenant à la famille des Spirochètes.

L'infection est transmissible à l'homme par pique de tique du type Ixodes et la maladie se divise en trois phases cliniques: précoce localisée, précoce étendue et tardive persistante. La première phase voit l'apparition, chez environ deux tiers des patients, d'un érythème cutané accompagné de symptômes semblables à une grippe ; pendant la seconde phase, qui survient au bout de plusieurs semaines ou mois, l'infection se répand dans le sang et le système lymphatique, provoquant des troubles musculaires squelettiques et neurologiques. La phase tardive se manifeste après des mois ou des années et peut provoquer des acrodermatites chroniques atrophiantes (ACA), neuroborrélioses chroniques, polyarthrites.

Le diagnostic de la Borréliose se base sur l'anamnèse, le tableau clinique et les résultats des tests en laboratoire.

La production d'anticorps peut s'avérer extrêmement lente au cours de la phase précoce de la maladie ; d'un autre côté, les anticorps peuvent persister pendant plus de dix ans.

Des titres élevés en IgG avec une concentration d'IgM basse ou nulle apparaissent quand la borréliose est en cours de guérison ou pendant le stade chronique.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Borrelia IgG est une méthode immuno-enzymatique de troisième génération prête à l'emploi pour la détermination des anticorps IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu à haute sensibilité et spécifications diagnostiques, dans les instruments Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigène se lie à la phase solide.

Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène après incubation en présence d'échantillon dilué.

Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps anti-IgG humaines conjugués à de la peroxydase de raifort. Le

conjugué qui ne s'est pas lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

La couleur bleue qui se développe est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques présents dans l'échantillon en examen.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour réaliser le test lorsqu'ils sont appliqués aux appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le résultat est exprimé en Indice – rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

Mise au rebut des résidus: les échantillons, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

13. Ne pas pipeter avec la bouche.
14. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
15. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO.
16. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
17. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
18. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

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

25. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
26. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
27. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
28. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
L'utilisation du kit est possible seulement avec une version mise à jour. S'assurer que le logiciel installé dans le dispositif corresponde ou qu'il ait une version (Rel.) supérieure de celle reportée dans le tableau publié sur le site internet Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
29. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
30. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
31. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
32. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
33. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
34. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, plasma avec anticoagulants autres que citraté, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
35. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
36. **Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

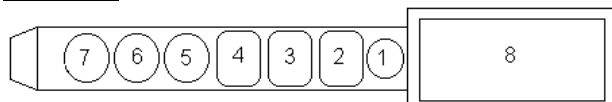
5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 30 déterminations.

DD DISPOSITIFS :

- 1 emballage contenant 6 dispositifs de calibrage chacun
- 4 emballages contenant 6 dispositifs pour échantillon chacun
-

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Combinaison d'antigènes recombinants: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagelin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 et NapA des espèces du groupe Borrelia burgdorferi sensu lato.

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine (à 0.26 mg/ml) et H₂O₂ à 0.01% stabilisés dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH 3.8).

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution tampon protéique à pH 7.1

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu: anticorps anti-IgG humaines marqués à la peroxydase.

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer l'échantillon non dilué.

Emploi : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, prélever les dispositifs nécessaires, et replacer les dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec du gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR

1 x 0.150 mL

Contenu : Tampon contenant des anticorps IgG anti-Borrelia burgdorferi. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.250 mL

Contenu : Tampon contenant des anticorps IgG anti-Borrelia burgdorferi. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8°C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum ou plasma citraté obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé conformément aux procédures standard de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

L'échantillon frais peut être conservé pendant une semaine entre 2 et 8°C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20°C.

Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongélation, agiter avec soin avant le dosage.

La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

8. PROCÉDURE

- Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
- Dispenser dans le puits n°1 d'un dispositif de calibrage (étiquette jaune) 50 µl de calibrateur en dilution et dans le puits n°1 d'un autre dispositif de calibrage (étiquette jaune) 50 µl de contrôle positif en dilution ; répéter à chaque changement de lot.
- Dispenser dans le puits n°1 de chaque appareil à échantillon (étiquette blanche) 50 µl d'échantillon en dilution à analyser.
- Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le contrôle présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en Indice (rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off).

Le test sur l'échantillon examiné peut être interprété de la manière suivante :

POSITIF: quand le résultat est > 1.2

NÉGATIF: quand le résultat est < 0.8

DOUTEUX/EQUIVOQUE: quand le résultat est compris entre 0.8 et 1.2

En cas de résultat douteux/équivoque, refaire le test. Si le résultat reste douteux/équivoque, répéter le prélèvement.

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué conjointement avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

12. RÉACTIONS CROISÉES

Le diagnostic sérologique est rendu difficile par la vaste diversité génétique de l'espèce *Borrelia burgdorferi*, les possibles réactions croisées avec des antigènes étrangers et l'abondance des heat shock proteins de *Borrelia*.

31 échantillons positifs aux Cytomegalovirus, Treponema, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Facteur Rhumatoïde et ANA ont été testés

Il n'est pas possible d'exclure les réactions croisées d'anticorps contre Cytomegalovirus et Epstein-Barr virus dans la phase aigüe.

13. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 86 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Les données de l'essai sont schématisées ci-après :

		Référence		
		+	-	Total
		79	0	79
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Total	79	7	86

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 1.00.

14. SENSIBILITÉ DIAGNOSTIQUE

88 échantillons de patients à différents stades de la maladie ont été analysés.

Les échantillons provenaient de patients classés cliniquement dans les différents stades de la maladie, successivement caractérisés avec le kit.

Les résultats obtenus sont résumés ci-dessous :

Phase de la maladie	Échantillons	Sensibilité Diagnostique (%)	CI _{95%}
Érythème migrant (Phase I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborréliose (Phase II)	32	96.9	84.2-99.3
Arthrite de Lyme (Phase III)	27	100	87.5-99.8

15. SPÉCIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

100 échantillons de donneurs sains ont été analysés.

Les échantillons utilisés pour le test provenaient de patients européens, résidents en zone géographique (Italie centrale) non endémique à valeur basse de séroprévalence (<20 cas par an).

Les résultats obtenus sont résumés ci-dessous :

Spécificité Diagnostic (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4



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



16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE	
	Moyenne (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Échantillon	INTER-SÉANCES	
	Moyenne (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

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

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (Index)	CV%	Moyenne (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

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

17. BIBLIOGRAPHIE

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235-60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickestein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437-7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS Borrelia IgG

Para a determinação qualitativa dos anticorpos IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático de terceira geração para a determinação qualitativa dos anticorpos IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu no soro e no plasma humano citratado com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A doença de Lyme (Borreliose) é uma doença infecciosa multissistêmica causada pela bactéria Borrelia burgdorferi pertencente à família das espiroquetas.

A infecção é transmitida ao homem pela picada de carrapatos do gênero ixodes e a doença pode ser dividida em três fases clínicas: precoce localizada, precoce disseminada e tardia persistente. Na primeira fase, que se manifesta em cerca de dois terços dos doentes, surge um eritema cutâneo acompanhado de sintomas semelhantes aos da gripe; na segunda, que se manifesta após semanas ou meses, a infecção dissemina-se pelo sangue e pelo sistema linfático, causando distúrbios musculoesqueléticos e neurológicos. A fase tardia manifesta-se após meses ou anos e pode provocar acrodermatite crônica atrófica (ACA), neuroborreliose crônica, poliartrite.

O diagnóstico de Borreliose baseia-se na anamnese, no quadro clínico e nos resultados dos exames de laboratório.

A produção de anticorpos pode ser extremamente lenta na fase precoce da doença. Por outro lado, os anticorpos podem persistir no organismo durante mais de dez anos.

Títulos de IgG elevados com concentração baixa ou nula de IgM apresentam-se quando a borreliose está em via de cura ou durante o estado crônico.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Borrelia IgG é um método imunoenzimático de terceira geração, pronto a usar, de elevada sensibilidade e especificidade de diagnóstico, para determinação de anticorpos IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno após incubação com amostra diluída.

Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos anti-IgG humanos conjugados com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-

se o substrato para a peroxidase. A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes amostra examinada.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O resultado é expresso em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana com os quais foram testados e os resultados foram negativos para a presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. Visto que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia completa em relação à ausência de agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infectados. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

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

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfectados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfectação eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área.

Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado.

Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes do uso, deixar o saco que contém os dispositivos à temperatura ambiente (18-30°C) durante pelo menos 30 minutos e utilizar no prazo de 60 minutos.

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

2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
O kit pode ser utilizado somente com uma versão atualizada de software. Certificar-se de que a versão (Rel.) do software instalado no instrumento coincida ou é superior à referida na tabela publicada no site da Diesse
(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, lipêmicas plasma com anticoagulantes diferentes do citrato, ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
12. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).**

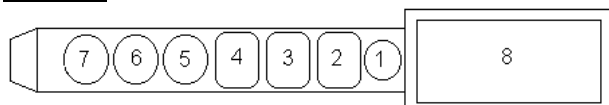
5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 30 determinações

DD DISPOSITIVOS

- 1 embalagem de 6 dispositivos cada para calibração
- 4 embalagens de 6 dispositivos cada para amostra

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Combinação de antígenos recombinantes: VIsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagelin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 e NapA das espécies do grupo Borrelia burgdorferi sensu lato.

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução tampão proteica com pH 7.1

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos anti-IgG humanas marcados com peroxidase.

Posição 1: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar a amostra não diluído.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.150 mL

Conteúdo: Tampão que contém anticorpos IgG anti-Borrelia burgdorferi. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.250 mL

Conteúdo: Tampão que contém anticorpos IgG anti-Borrelia burgdorferi. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 - 83608
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro ou plasma citratado, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório. Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

A amostra fresca pode ser conservada durante uma semana, a 2/8°C; para períodos de conservação maiores, congelar a -20°C.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Deitar 50 µl de calibrador não diluído no poço nº1 de um dispositivo para calibração (rótulo amarelo) e 50 µl de controlo positivo não diluído no poço nº1 de outro dispositivo de calibração (rótulo amarelo); repetir a cada mudança de lote.
4. Deitar 50 µl da amostra não diluída, a analisar, no poço nº1 de cada dispositivo para amostras (rótulo branco).
5. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações no Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar fora do intervalo de aceitação, contactar o Scientific Support.

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

O teste na amostra analisada pode ser interpretado como segue:

POSITIVO: quando o resultado for > 1.2

NEGATIVO: quando o resultado for < 0.8

INCERTO/EQUIVOCADO: quando o resultado estiver entre 0.8 e 1.2

Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado. Se o resultado continuar incerto/equivocado, repetir a recolha.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao mesmo paciente.

O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. REAÇÕES CRUZADAS

O diagnóstico serológico é difícil devido à grande diversidade genética da espécie *Borrelia burgdorferi*, às possíveis reações cruzadas com antígenos estranhos e à abundância de *Borrelia* heat shock proteins.

Foram testadas 31 amostras, positivas em Cytomegalovirus, Treponema, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, Fator Reumatóide e ANA.

Não são de se excluir reações cruzadas de anticorpos contra o Citomegalovirus e o vírus Epstein-Barr em fase aguda.

13. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 86 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Total	79	7	86

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Percent Negative Agreement (~Especificidade Diagnóstica):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.00.

14. SENSIBILIDADE DIAGNÓSTICA

Foram testadas 88 amostras de doentes em vários estádios da doença.

As amostras vieram de indivíduos classificados clinicamente nos vários estádios da doença, posteriormente caracterizados com o kit.

Foram analisadas amostras positivas de doentes em várias fases da doença.

A seguir são apresentados os dados obtidos:

Fase folicular	Amostras	Sensibilidade Diagnóstico (%)	CI _{95%}
Eritema migrans (Fase I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborreliose (Fase II)	32	96.9	84.2-99.3
Artrite de Lyme (Fase III)	27	100	87.5-99.8

15. ESPECIFICIDADE DE DIAGNÓSTICO

Foram analisadas 100 amostras de doadores saudáveis.

As amostras utilizadas para o teste eram provenientes de indivíduos europeus, residentes numa área geográfica não endêmica (Itália central) com seroprevalência baixa (< 20 casos por ano).

A seguir são apresentados os dados obtidos:

Especificidades Diagnóstico (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio	
	Média (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-
3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Amostra	Entre Ensaios	
	Média (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

*Artefacto devido ao conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível às variações (mesmo muito pequenas) com o valor médio próximo a zero.

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (Index)	CV%	Média (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

*Artefacto devido ao conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível às variações (mesmo muito pequenas) com o valor médio próximo a zero.

17. BIBLIOGRAFIA

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235–60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickestein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437–7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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





INSTRUCIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Borrelia IgG

**Pentru determinarea calitativa a anticorpilor IgG
anti-Borrelia burgdorferi sensu latu**

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

A treia generatie a metodei imunoenzematice pentru determinarea calitativa a anticorpilor de clasa IgG anti-Borrelia burgdorferi sensu latu in serul uman si plasma citrat umana, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Boala Lyme (Borelioza) este o boala infectioasa multisistemica cauzata de Borrelia burgdorferi bacterie ce apartine familiei Spirochete.

Infectia se transmite la om prin muscatura de capuse din genul Ixodes si poate fi impartita in trei faze clinice: infectie localizata devreme, infectie diseminata devreme, infectie diseminata tarziu. Pe perioada primei faze aproximativ doua treimi dintre pacienti dezvoltă un eritem al pielii impreuna cu simptome asemănătoare gripei. Pe perioada fazei a doua, care apare după săptămâni sau luni, infectia se raspandeste prin sange si sistemul limfatic cauzand afectiuni ale muschilor scheletici si tulburari neurologice. Faza tarzie apare după luni sau ani si poate provoca acrodermatita cronica atrofica (ACA), neuroborelioza cronica, poliartrita.

Diagnosticul de borelioza se bazeaza pe istoricul pacientului, tabloul clinic si rezultatele testelor de laborator.

Producția de anticorpi poate fi extrem de lenta in timpul fazei de inceput a bolii; pe de alta parte anticorpii pot persista mai mult de zece ani.

Titre crescute de IgG cu o concentrație de IgM scăzută sau nulă apar atunci când borelioza este în curs de vindecare sau pe parcursul fazei cronice.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul Chorus Borrelia IgG este a treia generatie a metodei imunoenzematice gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgG impotriva Borrelia burgdorferi sensu latu cu senzitivitate si specificitate de diagnostic ridicata, in instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). Antigenul este legat de faza solida. Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubare cu proba diluata.

Dupa spalările efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi anti-umani IgG conjugate cu peroxidaza din

hreon. Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza. Culoarea albastra care se dezvoltă este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus/ Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate in Index (OD proba/ OD cut-off).

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrării specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini după pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/Chorus TRIO.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel puțin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential biopericuloase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

Înainte de utilizare, așteptați cel puțin 30 de minute pentru ca punga care conține dispozitivele să ajungă la temperatura camerei (18-30°C).

Utilizați dispozitivele în interval de 60 de minute.

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO, instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
Utilizarea kit-ului este posibilă numai cu versiunea actualizată a programului software. Asigurați-vă ca programul software instalat pe instrument să coincidă sau să aibă o versiune Release (Rel.) superioară celei indicate în tabelul publicat pe site-ul Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
9. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
10. Utilizarea probelor puternic hemolizate și lipemice, de plasma cu anticoagulante diferite de citrat sau de probe care prezintă contaminare microbiană pot constitui toate surse de eroare.
11. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
12. **Asigurați-va ca instrumentul este conectat la Washing Buffer (Ref. 83606).**

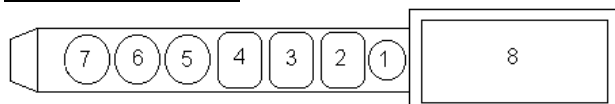
5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 30 de determinari.

DD DISPOZITIVE:

- 1 pachete, fiecare continand 6 dispozitive pentru calibrare
- 4 pachete, fiecare continand 6 dispozitive pentru probe

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Combinatie de antigeni recombinati: VlsE (B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto), p83, p58, internal flagelin - p41i, p39, OspA (B. afzelii, B. garinii), OspB, OspC (B. afzelii, B. garinii), OspE, p17 și NapA din specii din grupul Borrelia burgdorferi sensu lato.

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Solutie tampon proteica la pH 7.1

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi anti-umani IgG tapetati cu peroxidaza.

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie să pună proba nediluata

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.150 mL

Continut: Tampon continand IgG anticorpi anti-Borrelia burgdorferi. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 0.250 mL

Continut: Tampon continand IgG anticorpi anti-Borrelia burgdorferi. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

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

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand controlul pozitiv (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din ser sau plasmă citrat recoltat normal din vena si manevrata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator.

Posibile consecinte aparute in urma folosirii altor lichide biologice, nu sunt cunoscute.

Eșantionul proaspăt poate fi păstrat timp de o săptămână la 2/8°C, sau congelat pentru perioade mai lungi la -20°C.

Nu tineti probele in frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare.

Calitatea probei poate fi serios afectată de contaminarea microbiologică, care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideți pachetul (pe latura care conține dispozitivul de închidere prin presare), extrageți numărul necesar de dispozitive și, după ce ați eliminat aerul din interiorul pungii conținând restul dispozitivelor, sigilați-o.
2. Verificați starea dispozitivului în conformitate cu indicațiile menționate în capitolul 4, Măsurile de Precauție Analitice.
3. Pipetați 50 µl de calibrator nediluat în proba nr. 1 a unui dispozitiv pentru calibrare (etichetă galbenă) și 50 µl de control pozitiv nediluat în proba nr. 1 a altui dispozitiv pentru calibrare (etichetă galbenă); repetați la fiecare schimbare de lot.
4. Pipetați 50 µl din probele de test nediluate în proba nr. 1 din fiecare a unui dispozitiv pentru probe (etichetă albă).
5. Poziționați dispozitivele în instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (în cazul în care este necesar) și testul conform specificațiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați control pozitiv pentru a verifica validitatea rezultatelor obținute. Acesta trebuie folosit conform indicațiilor din manualul de operare al instrumentului. Dacă instrumentul ne avertizează că controlul pozitiv are o valoare în afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetată. Rezultatele anterioare vor fi corectate în mod automat.

Dacă rezultatul control pozitiv continuă să se situeze în afara intervalului acceptabil, apălați Suportul Științific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprimă rezultatele în Index (OD proba/OD cut-off).

Testul pe proba analizată poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: când rezultatul este > 1.2

NEGATIV: când rezultatul este < 0.8

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse între 0.8 și 1.2

Dacă rezultatul este incert/echivoc, repetați testul. Dacă rămâne incert/echivoc, colectați o nouă probă de ser.

11. LIMITARI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă care trebuie să ia în considerare alți indicatori referitori la pacient.

Testul, într-adevăr, nu poate fi folosit ca unică metodă pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate în raport cu informația disponibilă din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. REACTIVITATEA ÎNCRUCISĂ

Diagnosticul serologic este dificil din cauza gamei genetice largi de specii *Borrelia burgdorferi*, a posibilelor reacții încrucișate cu antigeni străini și a abundenței de proteine de șoc termic *Borrelia*.

Au fost testate 31 probe pozitive la: Citomegalovirus, Treponema, virusul Herpes simplex, virusul Epstein-Barr, Factorul reumatoid și ANA.

Nu este posibilă excluderea reacțiilor încrucișate ale anticorpilor îndreptate împotriva Citomegalovirusului și virusului Epstein-Barr în stadiu acut.

13. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 86 probe cu kitul Diesse și cu un alt kit disponibil pe piață.

Datele sunt rezumate în tabelul următor:

		Referința		
		+	-	Total
Diesse	+	79	0	79
	-	0	7	7
	Total	79	7	86

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului):

100.0% CI_{95%}: 95.4-99.9

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului):

100.0% CI_{95%}: 64.5-99.5

Acordul dintre cele două metode este excelent cu Cohen's Kappa de 1.00.

14. SENSIBILITATE DIAGNOSTICĂ

Au fost testate 88 de probe de la pacienți aflați în diferite stadii ale bolii.

Probele au provenit de la subiecți clasificați clinic în diferitele faze ale bolii, caracterizate ulterior cu ajutorul kitului.

Datele obținute sunt prezentate mai jos:

Stadiul bolii	Probe	Sensibilitate Diagnostic (%)	CI _{95%}
Eritema migrans (Stadiul I)	29	72.4	54.2-85.2
Neuroborelioză (Stadiul II)	32	96.9	84.2-99.3
Artrita Lyme (Stadiul III)	27	100	87.5-99.8

15. SPECIFICITATE DIAGNOSTICĂ

Au fost testate 100 de probe de la donatori sănătoși.

Probele utilizate pentru test au provenit de la subiecți europeni, cu reședința într-o zonă geografică (Italia centrală) care nu este considerată endemică, cu seroprevalență scăzută (< 20 de cazuri pe an).

Datele obținute sunt prezentate mai jos:

Specificitate Diagnostic (%)	CI _{95%}
98.0	93.0-99.4

16. PRECIZIA ȘI REPETABILITATEA

Proba	Precizia în cadrul ciclului de rulare	
	Media (Index)	CV%
1	0.4	12.5
2	0.1	-

3	1.6	5.0
4	2.3	7.8

Proba	Precizia între ciclurile de rulare	
	Media (Index)	CV%
1	0.3	36.7*
2	0.1	40.0*
3	1.5	11.3
4	2.2	10.5

* Artefact produs de către eroarea cunoscută a Coeficientului de Variație care devine extrem de sensibil chiar și la modificări minore în cadrul mediei, atunci când valoarea medie este aproape de zero.

Proba	Precizia între loturi		Precizia între instrumente	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.3	26.7*	0.3	30.0*
2	0.1	50.0*	0.1	50.0*
3	1.5	8.0	1.5	10.0
4	2.2	3.6	2.2	8.6

* Artefact produs de către eroarea cunoscută a Coeficientului de Variație care devine extrem de sensibil chiar și la modificări minore în cadrul mediei, atunci când valoarea medie este aproape de zero.

17. BIBLIOGRAFIE

1. L.A.Magnarelli, J.F.Anderson, R.C.Johnson. Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme disease and Other Spirochetal Infections. The Journal of Infectious disease. 1987 ; 156(1) :183-8.
2. R.A.Kalish, G.McHugh, J.Granquist, B.Shea, R.Ruthazer, A.C.Steere. Persistence of Immunoglobulin M or G Antibody Responses to Borrelia burgdorferi 10-20 Years after Active Lyme Disease. Clinical Infectious Disease. 2001 ; 33 :780-5
3. Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans? in Infect Dis Clin North Am, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235–60, DOI:10.1016/j.idc.2007.12.012, PMID 18452799.
4. B.-W.Pfister, L.Zöller, V.Brade, H.Eiffert, U.B. Göbel, G.Stanek in cooperation with H.-W.Pfister. MIQ 12/2000 Lyme Borreliosis ; Microbiological diagnosis
5. Andrew Szczepanski and Jorge L. Benach. Lyme Borreliosis: Host Responses to Borrelia burgdorferi. Microbiological Reviews, Mar. 1991, p. 21-34
6. Austin Vaz, Lisa Glickestein, Jodie A. Field, Gail Mchugh, Vijay K. Sikand, Nitin Damle, and Allen C. Steere. Cellular and Humoral Immune Responses to Borrelia burgdorferi Antigens in Patients with Culture-Positive Early Lyme Disease. Infection and Immunity, Dec. 2001, p. 7437–7444
7. Lindgren E., Jaenson T.G.T Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization 2006.



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



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