

CHORUS

Brucella IgM



DIESSE

REF 81166

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





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Brucella IgM

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgM anti-Brucella

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

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

2. INTRODUZIONE

La Brucellosi è una malattia infettiva causata da piccoli cocco-bacilli gram-negativi: ne esistono 7 specie, ognuna con diverse biovarianti, ma solo 4 sono infettive per l'uomo: B. abortus, B. melitensis, B. suis e B. canis.

Tutte le infezioni nell'uomo sono conseguenti al diretto contatto con animali infetti o all'ingestione di latte o latticini contaminati, non pastorizzati; la trasmissione interumana è rarissima. La brucellosi, malattia professionale di allevatori, veterinari, lavoratori dei mattatoi e del personale di laboratorio, si manifesta prevalentemente in inverno e primavera ed il periodo di incubazione è tra una e tre settimane, ma può arrivare ad essere anche di due mesi. È una malattia sistemica che può interessare qualunque organo e tessuto, caratterizzata da segni e sintomi poco specifici: febbre, sudorazione; a volte possono comparire modeste linfo-adenomegalia, epatomegalia e splenomegalia.

Il monitoraggio dei livelli anticorpali può servire a seguire lo stato dell'infezione: durante i primi giorni sono presenti solo le IgM; al progredire della malattia le IgM decrescono e diventano predominanti le IgG. Nelle brucellosi croniche, le IgG possono essere prodotte per un lungo periodo.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Brucella IgM è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-Brucella, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

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/it/Support/Download/strumento:39/>)

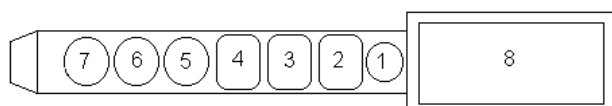
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione 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. Non utilizzare campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o che presentano inquinamento microbico e inattivati al calore.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene B. abortus

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica, contenente fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% anticorpi anti-IgG umane e un indicatore per rivelare la presenza di siero.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero diluito contenente anticorpi anti-Brucella e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero diluito contenente anticorpi anti-Brucella e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

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

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

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 ciascun dispositivo 50 µl di siero non diluito da analizzare. Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.2

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

Non è possibile escludere reazioni crociate di anticorpi diretti contro *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* e tra le varie biovarianti di *Brucella* spp. ad eccezione di *Brucella canis*.

13. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 99 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	15	1	16
	-	0	83	83
	Totale	15	84	99

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 79.6- 99.7

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

98.8% CI_{95%}: 93.5-99.8

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.96.

14. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	2.6	13.1	2.6	8.1
2	1.6	7.5	1.4	7.1
3	0.2	5.0	0.2	25.0*

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	2.7	5.6	2.6	6.5
2	1.6	9.4	1.4	5.0
3	0.2	20.0*	0.2	25.0*

*E' noto l'effetto sul CV% a variazioni (anche molto piccole) del valore di media vicino a zero.

15. BIBLIOGRAFIA

1. Brucella Subgroup of the Northern Ireland Regional Zoonoses Group (2004). *Diagnosis and Management of Acute Brucellosis in Primary Care*.
2. Franco, María Pia; Mulder, Maximilian; Gilman, Robert H; Smits, Henk L (2007). *Human brucellosis*. The Lancet Infectious Diseases. 7 (12): 775–786.
3. Al Dahouk, Sascha; Nöckler, Karsten (July 2011). *Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy*. Expert Review of Anti-infective Therapy. 9 (7): 833–845.
4. Mantur, B.; Parande, A.; Amarnath, S.; Patil, G.; Walvekar, R.; Desai, A.; Parande, M.; Shinde, R.; Chandrashekar, M.; Patil, S. (2010). *ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Brucellosis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 83 (2): 314–318.
5. *Annual Epidemiological Report for 2016 Brucellosis – Surveillance Report*. European Centre for Disease Prevention and Control.
6. Paoli C.; Campisi E.; Gargani G. (1988). *Determinazione semiquantitativa delle IgM nella Brucellosi umana*. Atti XVII° Congresso Nazionale A.M.C.L.I. (Rimini 1988).
7. M.J. Corbel (principal author) (2006). *Brucellosis in humans and animals*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
8. D.T. Berman; B.L. Wilson; E. Moreno; R.D. Angus; L.M. Jones (Apr. 1980). *Characterization of Brucella abortus soluble antigen employed in immunoassay*. Journal of Clinical Microbiology; 355-362.
9. P.M. Muñoz; C.M. Marín; D. Monreal; D. Gonzalez; B. Garin-Bastuji; R. Díaz; R.C. Mainar-Jaime; I. Moriyón; J.M. Blasco (Jan. 2005). *Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 141-151.
10. B. Bonfini; G. Chiarenza; V. Paci; F. Sacchini; R. Salini; G. Vesco; S. Villari; K. Zilli; M. Tottarelli (2018). *Cross-reactivity in serological tests for brucellosis: a comparison for immune response of Escherichia coli O157:H7 and Yersinia Enterocolitica O:9 vs Brucella spp*. Veterinaria italiana 2018, 54 (2), 107-114.
11. J.S. García del Pozo; S.L. Ortuño; E. Navarro; J. Solera (2014). *Detection of IgM Anti-brucella Antibody in the*

Absence of IgGs: a challenge for the clinical interpretation of Brucella serology. PLOS neglected Tropical Diseases. Volume 8, Issue 12, e3390.

12. P.R. Murray; K.S. Rosenthal; M.A. Pfaller (2009). *Microbiologia Medica Settima Edizione, Brucella*, 318-321



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Brucella IgM

**For the qualitative determination of anti-Brucella
IgM antibodies**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

Brucellosis is an infectious disease caused by small, gram-negative, rod-shaped bacteria: there are 7 distinct species but only four species infect humans: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* and *B. canis*.

People are infected by contact with infected animals or by eating meat or drinking unpasteurized milk; infected humans are not contagious. Brucellosis, for which endangered people are butchers, farmers, owners of pets, veterinaries and laboratory staff, appears in prevalence during winter and spring and the incubation period is between one and three weeks, but may be as long as two months. It is a systemic disease, which can damage different joints and organs and is characterized by not specific symptoms such as fever, sweating; sometimes it can be lymphadenomegaly, hepatomegaly and splenomegaly.

The monitoring of antibodies' titer can serve as an indication of the status of infection: during the first days, IgM is the only immunoglobulin that appears; as the disease progresses, IgM recedes quantitatively and IgG becomes predominant. In chronic brucellosis, IgG may be produced for an extended period.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Brucella IgM device is ready to use for the detection of IgM antibodies against Brucella, in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

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

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

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

The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

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

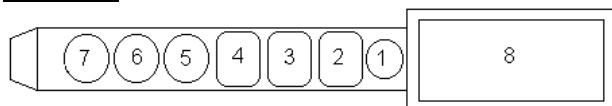
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. Do not use strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, serum not completely coagulated or samples presenting microbial contamination and heat-inactivated.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with B. abortus antigen

Position 5: UNCOATED MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted serum containing antibodies anti- Brucella and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted serum containing antibodies anti- Brucella and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

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 test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 1.2

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 serum sample.

11. LIMITATIONS

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

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

12. CROSS-REACTIONS

It is not possible to exclude cross-reactions of antibodies directed against *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* and among different biovars of *Brucella* spp. except for *Brucella canis*.

13. METHOD COMPARISON

In an experimentation 99 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	15	1	16
	-	0	83	83
	Total	15	84	99

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100% CI_{95%}: 79.6- 99.7

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

98.8% CI_{95%}: 93.5-99.8

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.96.

14. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	2.6	13.1	2.6	8.1
2	1.6	7.5	1.4	7.1
3	0.2	5.0	0.2	25.0*

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean Index	CV%	Mean Index	CV%
1	2.7	5.6	2.6	6.5
2	1.6	9.4	1.4	5.0
3	0.2	20.0*	0.2	25.0*

* It is known the fault on CV% to changes (even very small) in the mean value near zero

15. REFERENCES

1. Brucella Subgroup of the Northern Ireland Regional Zoonoses Group (2004). *Diagnosis and Management of Acute Brucellosis in Primary Care*.
2. Franco, María Pía; Mulder, Maximilian; Gilman, Robert H; Smits, Henk L (2007). *Human brucellosis*. The Lancet Infectious Diseases. 7 (12): 775–786.
3. Al Dahouk, Sascha; Nöckler, Karsten (July 2011). *Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy*. Expert Review of Anti-infective Therapy. 9 (7): 833–845.
4. Mantur, B.; Parande, A.; Amarnath, S.; Patil, G.; Walvekar, R.; Desai, A.; Parande, M.; Shinde, R.; Chandrashekar, M.; Patil, S. (2010). *ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Brucellosis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 83 (2): 314–318.
5. *Annual Epidemiological Report for 2016 Brucellosis – Surveillance Report*. European Centre for Disease Prevention and Control.
6. Paoli C.; Campisi E.; Gargani G. (1988). *Determinazione semiquantitativa delle IgM nella Brucellosi umana*. Atti XVII° Congresso Nazionale A.M.C.L.I. (Rimini 1988).
7. M.J. Corbel (principal author) (2006). *Brucellosis in humans and animals*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
8. D.T. Berman; B.L. Wilson; E. Moreno; R.D. Angus; L.M. Jones (Apr. 1980). *Characterization of Brucella abortus soluble antigen employed in immunoassay*. Journal of Clinical Microbiology; 355-362.
9. P.M. Muñoz; C.M. Marín; D. Monreal; D. Gonzalez; B. Garin-Bastuji; R. Díaz; R.C. Mainar-Jaime; I. Moriyón; J.M. Blasco (Jan. 2005). *Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 141-151.
10. B. Bonfini; G. Chiarenza; V. Paci; F. Sacchini; R. Salini; G. Vesco; S. Villari; K. Zilli; M. Tottarelli (2018). *Cross-reactivity in serological tests for brucellosis: a comparison for immune response of Escherichia coli O157:H7 and Yersinia Enterocolitica O:9 vs Brucella spp.* Veterinaria italiana 2018, 54 (2), 107-114.
11. J.S. García del Pozo; S.L. Ortuño; E. Navarro; J. Solera (2014). *Detection of IgM Anti-brucella Antibody in the Absence of IgGs: a challenge for the clinical interpretation of Brucella serology*. PLOS neglected Tropical Diseases. Volume 8, Issue 12, e3390.
12. P.R. Murray; K.S. Rosenthal; M.A. Pfaller (2009). *Microbiologia Medica Settima Edizione, Brucella*, 318-321



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Brucella IgM

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-Brucella

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad infecciosa causada por pequeños cocobacilos gramnegativos. Existen siete especies, cada una de ellas con distintas biovariantes, pero solo cuatro pueden producir enfermedad en el ser humano: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canis*.

Las infecciones se transmiten al hombre por contacto directo con los animales infectados o por la ingesta de leche o productos lácteos contaminados sin pasteurizar. La transmisión de persona a persona es sumamente rara. La brucelosis, enfermedad profesional de granjeros, veterinarios, trabajadores de mataderos y personal de laboratorio, se manifiesta principalmente en invierno y primavera, y su periodo de incubación oscila entre una y tres semanas, aunque puede llegar a ser de dos meses. Es una enfermedad sistémica que puede afectar a cualquier órgano y tejido, y se caracteriza por tener un cuadro clínico y síntomas poco específicos, como fiebre y sudoración. En ocasiones, los enfermos pueden presentar linfadenomegalia, hepatomegalia y esplenomegalia ligeras.

El control de los niveles de anticuerpos puede ayudar a seguir el estado de la infección: durante los primeros días solo están presentes las IgM; la evolución de la enfermedad conlleva una disminución de las IgM y un aumento de las IgG. En las brucelosis crónicas, las IgG se pueden detectar durante un largo periodo.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Brucella IgM está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgM anti-Brucella en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

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

El conjugado que no se haya unido se elimina y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa. El color azul que se

desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

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

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/>)

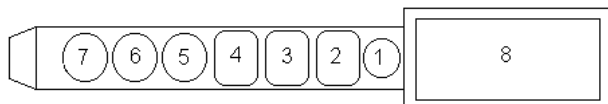
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
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. No utilizar muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana e inactivadas por calor.
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 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con antígeno B. abortus

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde se dispensa la muestra.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos anti-Brucella y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos anti-Brucella y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

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.

- Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
- Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
- Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 1.2

NEGATIVO cuando el resultado es < 0.8

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 1.2 y 0.8

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

No se pueden excluir reacciones cruzadas de anticuerpos dirigidos contra *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* y entre las distintas biovariantes de *Brucella* spp. a excepción de *Brucella canis*.

13. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 99 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	15	1	16
	-	0	83	83
	Total	15	84	99

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 79.6- 99.7

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

98.8% CI_{95%}: 93.5-99.8

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.96.

14. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	2.6	13.1	2.6	8.1
2	1.6	7.5	1.4	7.1
3	0.2	5.0	0.2	25.0*

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media Index	CV%	Media Index	CV%
1	2.7	5.6	2.6	6.5
2	1.6	9.4	1.4	5.0
3	0.2	20.0*	0.2	25.0*

*Es conocido el efecto sobre el CV% de variaciones, incluso muy pequeñas, cuando el valor de media es cercano a cero.

15. BIBLIOGRAFÍA

- Brucella Subgroup of the Northern Ireland Regional Zoonoses Group (2004). *Diagnosis and Management of Acute Brucellosis in Primary Care*.
- Franco, María Pía; Mulder, Maximilian; Gilman, Robert H; Smits, Henk L (2007). *Human brucellosis*. The Lancet Infectious Diseases. 7 (12): 775–786.
- Al Dahouk, Sascha; Nöckler, Karsten (July 2011). *Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy*. Expert Review of Anti-infective Therapy. 9 (7): 833–845.
- Mantur, B.; Parande, A.; Amarnath, S.; Patil, G.; Walvekar, R.; Desai, A.; Parande, M.; Shinde, R.; Chandrashekar, M.; Patil, S. (2010). *ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Brucellosis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 83 (2): 314–318.
- Annual Epidemiological Report for 2016 Brucellosis – Surveillance Report*. European Centre for Disease Prevention and Control.
- Paoli C.; Campisi E.; Gargani G. (1988). *Determinazione semiquantitativa delle IgM nella Brucellosi umana*. Atti XVII° Congresso Nazionale A.M.C.L.I. (Rimini 1988).
- M.J. Corbel (principal author) (2006). *Brucellosis in humans and animals*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- D.T. Berman; B.L. Wilson; E. Moreno; R.D. Angus; L.M. Jones (Apr. 1980). *Characterization of Brucella abortus soluble antigen employed in immunoassay*. Journal of Clinical Microbiology; 355-362.
- P.M. Muñoz; C.M. Marín; D. Monreal; D. Gonzalez; B. Garin-Bastuji; R. Díaz; R.C. Mainar-Jaime; I. Moriyón; J.M. Blasco (Jan. 2005). *Efficacy of several serological*

tests and antigens for diagnosis of bovine Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 141-151.

10. B. Bonfini; G. Chiarenza; V. Paci; F. Sacchini; R. Salini; G. Vesco; S. Villari; K. Zilli; M. Tottarelli (2018). *Cross-reactivity in serological tests for brucellosis: a comparison for immune response of Escherichia coli O157:H7 and Yersinia Enterocolitica O:9 vs Brucella spp.* Veterinaria italiana 2018, 54 (2), 107-114.
11. J.S. García del Pozo; S.L. Ortuño; E. Navarro; J. Solera (2014). *Detection of IgM Anti-brucella Antibody in the Absence of IgGs: a challenge for the clinical interpretation of Brucella serology.* PLOS neglected Tropical Diseases. Volume 8, Issue 12, e3390.
12. P.R. Murray; K.S. Rosenthal; M.A. Pfaller (2009). *Microbiologia Medica Settima Edizione, Brucella*, 318-321.



INSTRUCTIONS D'UTILISATION

CHORUS Brucella IgM

Pour la détermination qualitative des anticorps IgM anti-Brucella

Uniquement pour diagnostic in vitro

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps IgM anti-Brucella dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux analyseurs Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

La brucellose est une maladie infectieuse causée par de petits coccobacilles à gram-négatif : il en existe 7 espèces, chacune avec différents biovariants, mais seulement 4 sont infectieuses pour l'homme : B. abortus, B. melitensis, B. suis et B. canis.

Toutes les infections chez l'homme sont causées par un contact direct avec des animaux infectés ou par ingestion de lait ou de produits laitiers contaminés et non pasteurisés ; la transmission interhumaine est très rare. La brucellose, une maladie professionnelle des éleveurs, vétérinaires, employés des abattoirs et personnel de laboratoire, se manifeste principalement en hiver et au printemps. La période d'incubation est comprise entre une et trois semaines, mais peut aller jusqu'à deux mois. Il s'agit d'une maladie systémique qui peut toucher n'importe quel organe et tissu, caractérisée par des signes et des symptômes peu spécifiques : fièvre, transpiration ; parfois, une lympho-adénomégalie, une hépatomégalie et une splénomégalie modestes peuvent apparaître.

La surveillance des taux d'anticorps peut être utilisée pour suivre l'état de l'infection : pendant les premiers jours, seuls des IgM sont présents ; à mesure que la maladie progresse, les IgM diminuent et les IgG deviennent prédominants. En cas de brucellose chronique, des IgG peuvent être produites sur une longue période.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus Brucella IgM est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps IgM anti-Brucella avec les analyseurs Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, c'est-à-dire un dosage immuno-enzymatique sur support solide). L'antigène se lie à la phase solide. Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène après incubation en présence de sérum humain dilué. Après lavage visant à éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgM humains conjugués à de la peroxydase de raifort. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté. La coloration bleue qui se développe est

proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum examiné.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à l'exécution du test lorsqu'ils sont appliqués sur les analyseurs Chorus/Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en indice (DO de l'échantillon/DO du cut-off).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO.

Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité habituellement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements relatifs à la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium afin d'obtenir une concentration finale de 1 % minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels déversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en contact de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

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

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puit.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présente des corps étrangers dans le puit de réaction.

4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur Chorus/Chorus TRIO, en respectant scrupuleusement les Instructions d'Utilisation et le Manuel de l'Utilisateur de l'instrument.

Le kit peut uniquement être utilisé avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé dans l'instrument est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse

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

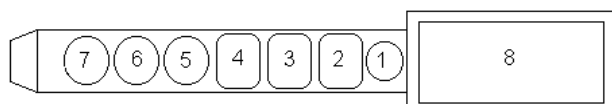
5. S'assurer que l'analyseur Chorus/Chorus TRIO est réglé correctement (voir le Manuel de l'Utilisateur).
6. Ne pas altérer le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'analyseur (voir Manuel de l'Utilisateur).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. Ne pas utiliser d'échantillons de sérum fortement hémolysés, lipidiques, jaunâtres, qui ne sont pas complètement coagulés ou qui présentent une pollution microbienne et sont inactivés à la chaleur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
12. **Vérifier que l'analyseur est connecté au Washing Buffer (Réf. 83606)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 boîtes contenant 6 dispositifs chacune

Description :



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé à l'antigène B. abortus

Position 5 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 0,26 mg/mL et H₂O₂ 0,01 % stabilisés en tampon citraté 0,05 mol/L (pH 3,8).

Position 3 : DILUANT POUR ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution protéique contenant 0,05 % de phénol, 0,02 % de bronidox, des anticorps anti-IgG humains et un indicateur pour détecter la présence du sérum.

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : Anticorps monoclonaux anti-IgM humains marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0,05 % et du bronidox 0,02 %.

Position 1 : Puits vide

Où l'échantillon a été transféré.

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0,175 ml

Contenu : Sérum dilué contenant des anticorps anti-Brucella et un agent de conservation. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,425 ml

Contenu : Sérum dilué contenant des anticorps anti-Brucella et un agent de conservation. Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS ET NON FOURNI :

- TAMPON DE LAVAGE **RÉF** 83606
- SOLUTION DE NETTOYAGE 2000 **RÉF** 83609
- SOLUTION DÉSINFECTANTE **RÉF** 83604 - 83608
- CONTRÔLE NÉGATIF/DILUANT POUR ÉCHANTILLON CHORUS **RÉF** 83607
- Analyseur Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µL.
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour le recueil de matières potentiellement infectées

6. MODE 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 la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 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'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et préparés selon les procédures standards de laboratoire.

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

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20 °C.

Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne qui peut induire de faux résultats.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté de la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir expulsé l'air.
2. Contrôler l'état du dispositif à l'oeil nu comme indiqué au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
3. Distribuer 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif à analyser. Utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'analyseur Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test come indiqué dans le manuel d'utilisation de l'analyseur.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en le traitant comme indiqué dans le Manuel de l'Utilisateur de l'analyseur. Si l'analyseur signale que le sérum de contrôle a une valeur hors tolérance, il est nécessaire d'effectuer un nouveau calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle est encore hors tolérance, contacter l'Assistance Scientifique.

Tél. : 0039 0577 319554
Télécopie : 0039 0577 366605
email : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'analyseur Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat sous forme d'indice (DO de l'échantillon/DO du cut-off).

Le dosage du sérum examiné peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est $>1,2$
NÉGATIF : lorsque le résultat est $< 0,8$
DOUTEUX/AMBIGU : lorsque le résultat est compris entre 0,8 et 1,2

En cas de résultat douteux/ambigu, répéter le dosage. Si le résultat reste douteux/ambigu, répéter le prélèvement.

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient.

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

12. RÉACTIONS CROISÉES

Il n'est pas possible d'exclure les réactions croisées des anticorps dirigés contre *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* et les différents biovariants de *Brucella* spp. à l'exception de *Brucella canis*.

13. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 99 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit commercial.

Les résultats de l'étude sont résumés ci-dessous :

		Référence		Total
		+	-	
Diesse	+	15	1	16
	-	0	83	83
	Total	15	84	99

Pourcentage de concordance positif (~Sensibilité Diagnostique) :

100 % CI₉₅ % : 79,6- 99,7

Pourcentage de concordance négatif : (~Sensibilité Diagnostique) :

98,8 % CI₉₅ % : 93,5-99,8

Le degré de concordance entre les deux méthodes s'avère optimal avec un coefficient Kappa (Constante de Cohen) de 0,96.

14. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Inter-séances	
	Moyenne Indice	CV %	Moyenne Indice	CV %
1	2,6	13,1	2,6	8,1
2	1,6	7,5	1,4	7,1
3	0,2	5,0	0,2	25,0*

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne Indice	CV %	Moyenne Indice	CV %
1	2,7	5,6	2,6	6,5
2	1,6	9,4	1,4	5,0
3	0,2	20,0*	0,2	25,0*

*L'effet sur le CV% est connu pour être sujet à des variations (même très petites) de la valeur moyenne proche de zéro.

15. BIBLIOGRAPHIE

1. Brucella Subgroup of the Northern Ireland Regional Zoonoses Group (2004). *Diagnosis and Management of Acute Brucellosis in Primary Care*.
2. Franco, María Pía; Mulder, Maximilian; Gilman, Robert H; Smits, Henk L (2007). *Human brucellosis*. The Lancet Infectious Diseases. 7 (12): 775–786.
3. Al Dahouk, Sascha; Nöckler, Karsten (July 2011). *Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy*. Expert Review of Anti-infective Therapy. 9 (7): 833–845.
4. Mantur, B.; Parande, A.; Amarnath, S.; Patil, G.; Walvekar, R.; Desai, A.; Parande, M.; Shinde, R.; Chandrashekar, M.; Patil, S. (2010). *ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Brucellosis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 83 (2): 314–318.
5. *Annual Epidemiological Report for 2016 Brucellosis – Surveillance Report*. European Centre for Disease Prevention and Control.
6. Paoli C.; Campisi E.; Gargani G. (1988). *Determinazione semiquantitativa delle IgM nella Brucellosi umana*. Atti XVII° Congresso Nazionale A.M.C.L.I. (Rimini 1988).

7. M.J. Corbel (principal author) (2006). *Brucellosis in humans and animals*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
8. D.T. Berman; B.L. Wilson; E. Moreno; R.D. Angus; L.M. Jones (Apr. 1980). *Characterization of Brucella abortus soluble antigen employed in immunoassay*. Journal of Clinical Microbiology; 355-362.
9. P.M. Muñoz; C.M. Marín; D. Monreal; D. Gonzalez; B. Garin-Bastuji; R. Díaz; R.C. Mainar-Jaime; I. Moriyón; J.M. Blasco (Jan. 2005). *Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 141-151.
10. B. Bonfini; G. Chiarenza; V. Paci; F. Sacchini; R. Salini; G. Vesco; S. Villari; K. Zilli; M. Tottarelli (2018). *Cross-reactivity in serological tests for brucellosis: a comparison for immune response of Escherichia coli O157:H7 and Yersinia Enterocolitica O:9 vs Brucella spp.* Veterinaria italiana 2018, 54 (2), 107-114.
11. J.S. García del Pozo; S.L. Ortuño; E. Navarro; J. Solera (2014). *Detection of IgM Anti-brucella Antibody in the Absence of IgGs: a challenge for the clinical interpretation of Brucella serology*. PLOS neglected Tropical Diseases. Volume 8, Issue 12, e3390.
12. P.R. Murray; K.S. Rosenthal; M.A. Pfaller (2009). *Microbiologia Medica Settima Edizione, Brucella*, 318-321



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Brucella IgM

Pro kvalitativní stanovení protilátek anti-Brucella IgM

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. POUŽITÍ

Enzymová imunoanalytická metoda pro kvalitativní stanovení protilátek třídy IgM anti-Brucella v lidském séru pomocí jednorázového zařízení připojeného k přístrojům Chorus a Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Brucelóza je infekční onemocnění způsobené malými gramnegativními kokobacily: existuje 7 druhů, každý s různými biologickými variantami, ale pouze 4 jsou infekční pro člověka: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* a *B. canis*.

Všechny lidské infekce jsou důsledkem přímého kontaktu s infikovanými zvířaty nebo požití kontaminovaného nepasterizovaného mléka nebo mléčných výrobků; přenos mezi lidmi je velmi vzácný. Brucelóza, profesionální onemocnění chovatelů hospodářských zvířat, veterinářů, pracovníků jatek a laboratorního personálu se vyskytuje hlavně v zimě a na jaře a inkubační doba se pohybuje mezi jedním a třemi týdny, ale může být až dva měsíce. Jedná se o systémové onemocnění, které může postihnout jakýkoli orgán a tkáň, charakterizované nespecifickými příznaky: horečkou, pocením; někdy se může objevit mírná lymfadenomegalie, hepatomegalie a splenomegalie.

Sledování hladin protilátek lze využít ke sledování stavu infekce: v prvních dnech jsou přítomny pouze IgM; s postupujícím onemocněním IgM klesají a převažují IgG. U chronické brucelózy se IgG mohou vytvářet po dlouhou dobu.

3. PRINCIP METODY

Zařízení Chorus Brucella IgM je připraveno k použití pro stanovení IgM a anti-Brucella protilátek v přístrojích Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymově vázaná imunosorbentní analýza). Antigen je vázán na pevnou fázi. Specifické imunoglobuliny se vážou na antigen po inkubaci se zředěným lidským sérem. Po promytí a odstranění nezačínajících proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z monoklonálních protilátek proti lidskému IgM konjugovaným s křenuvovou peroxidázou. Nenavázaný konjugát se odstraní a přidá se substrát pro peroxidázu. Barva, která se vytvoří, je přímo úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných v testovaném séru.

Jednorázová zařízení obsahují všechna činidla k provedení testu, pokud jsou použita na přístrojích Chorus/Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v indexu (OD vzorku/OD cut-off).

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Se všemi činidly a vzorky se musí zacházet v souladu s bezpečnostními pravidly obvyklými v laboratoři.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a proužky je třeba zacházet jako s infikovanými zbytky a poté je zlikvidovat v souladu s předpisy.

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

1. Nepipetujte ústy.
2. Při manipulaci se vzorky používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po vložení zařízení do přístroje Chorus/Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Bezpečnostní charakteristiky činidel obsažených v soupravě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na vyžádání).
5. Neutralizované kyseliny a jiné kapalné odpady by měly být dezinfikovány přidáním chlornanu sodného v dostatečném množství, aby bylo dosaženo konečné koncentrace alespoň 1 %. K zajištění účinné dezinfekce by mělo stačit působení 1% chlornanu sodného po dobu 30 minut.
6. Jakékoli rozlití potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci dekontaminován, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena. Veškeré materiály použité k dekontaminaci náhodně rozlitych látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad. Materiály s obsahem chlornanu sodného nevracíte do autoklávy.

Opatření pro správné provedení testu

Před použitím zahřejte zařízení na pokojovou teplotu (18-30 °C) a použijte je do 60 minut.

1. **Zařízení se substrátem (jamka 4) obarveným na modro vyhodte.**
2. Při přidávání vzorku do jamky zkontrolujte, zda je dokonale rozložen na dně.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost činidel v zařízení a neporušenost samotného zařízení. Nepoužívejte zařízení, u nichž při vizuální kontrole chybí reagenty a/nebo se v reakční jamce nacházejí cizí tělesa.
4. Zařízení je nutné používat společně s přístrojem Chorus/Chorus TRIO, přičemž je nutné striktně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku k přístroji. **Použití sady je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný v přístroji odpovídá nebo má vyšší verzi (Rel.), než je uvedeno v tabulce na webových stránkách společnosti Diesse.**
(<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
5. Zkontrolujte, zda je přístroj Chorus/Chorus TRIO správně nastaven (viz uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti zařízení neměňte, aby jej přístroj správně odečetl.

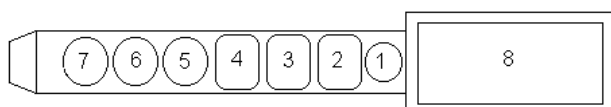
7. Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazáků pro skladování vzorků.
8. Vadné čárové kódy lze do přístroje zadat ručně (viz uživatelská příručka).
9. Během skladování a používání nevystavujte zařízení silnému světlu či chlomanovým výparům.
10. Nepoužívejte silně hemolyzované, lipaemické, ikterické, neúplně sražené sérum nebo tepelně inaktivované vzorky kontaminované mikroby.
11. Nepoužívejte zařízení po uplynutí doby použitelnosti
12. **Zkontrolujte, zda je přístroj připojen k promývacímu pufru (Ref. 83606)**

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Sada vystačí na 36 stanovení

DD ZAŘÍZENÍ 6 balení každé po 6 zařízeních

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA Potažená antigenem B. abortus

Pozice 5: MIKROTITRAČNÍ JAMKA Nesenzibilizováno.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

Obsah: Tetrametylbendizin 0,26 mg/ml a H_2O_2 0,01 % stabilizovaný v 0,05 mol/l citrátovém pufru (pH 3,8).

Pozice 3: ŘEDIDLO PRO VZORKY

Obsah: Roztok bílkovin obsahující 0,05% fenol, 0,02% Bronidox proti lidským IgG protilátkám a indikátor ke zjištění přítomnosti séra.

Pozice 2: KONJUGÁT OBSAHUJE

Obsah: Monoklonální protilátky proti lidskému IgM značené peroxidázou ve fosfátovém pufovaném roztoku obsahujícím 0,05 % fenolu a 0,02 % Bronidoxu.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam je vzorek přenesen.

Použití: jeden sáček vyrovnejte na pokojovou teplotu, otevřete sáček, vyjměte potřebné pomůcky; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vypusťte vzduch a uzavřete stisknutím na straně zavírání. Skladujte při teplotě 2/8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,175 ml

Obsah: Zředěné sérum obsahující protilátky proti Brucelle a konzervační látku. Tekutina je připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Zředěné sérum obsahující protilátky proti Brucelle a konzervační látku. Tekutina je připravená k použití.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- MYCÍ PUFR **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608

- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Přístroj Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebírat objemy 50-200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

Činidla musí být skladovány při teplotě 2-8 °C. V případě nesprávné skladovací teploty je třeba kalibraci opakovat a správnost výsledku zkontrolovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každé složce a na vnějším štítku balení.

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

ZAŘÍZENÍ	8 týdnů při teplotě 2-8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2-8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2-8°C

7. TYP VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Vzorkem je sérum získané při odběru žilní krve a zpracované podle standardních laboratorních postupů.

Důsledky použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze skladovat po dobu 4 dnů při teplotě 2-8 °C; pro delší skladování jej zmrazte při -20 °C.

Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků. Po rozmrazení vzorek před analýzou pečlivě protřepejte.

Kvalita vzorku může být vážně ovlivněna mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete sáček (stranu s tlakovým zavíráním), yjměte potřebné množství testů, a zbytek uložte tak, že sáček po odstranění vzduchu znovu uzavřete.
2. Vizualně zkontrolujte stav zařízení podle pokynů v kapitole 4 Analytická upozornění.
3. Do jamky č. 1 každého přístroje dávkujte 50 µl neředěného testovacího séra. Při každé výměně dávky použijte kalibrační zařízení.
4. Umístěte zařízení na přístroj Chorus/Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li vyžadována) a test podle uživatelské příručky přístroje.

9. VALIDACE TESTU

Použijte pozitivní kontrolní sérum k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje. Pokud přístroj indikuje, že kontrolní sérum má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte vědeckou podporu.

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

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj Chorus/Chorus TRIO poskytuje výsledek v indexu (vzorek OD/mezní hodnota OD).

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1,2

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0,8

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 0,8 až 1,2

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

11. OMEZENÍ TESTU

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Ve skutečnosti nelze test použít pro stanovení klinické diagnózy samostatně a získaný výsledek je vždy třeba hodnotit společně s údaji z anamnézy pacienta a/nebo s dalšími diagnostickými vyšetřeními.

12. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Nelze vyloučit zkřížené reakce protilátek namířených proti *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* a mezi různými biovariantami *Brucella* spp. s výjimkou *Brucella canis*.

13. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jedné studii bylo analyzováno 99 vzorků pomocí souprav Diesse a další soupravy z komerční sítě.

Níže jsou shrnuty údaje ze studie:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	15	1	16
	-	0	83	83
	Celkem	15	84	99

Procento pozitivní shody (~ Diagnostická citlivost):

100% CI_{95%}: 79,6- 99,7

Procento negativní shody: (~Diagnostická specifita):

98,8% CI_{95%}: 93,5-99,8

Míra shody mezi oběma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) 0,96.

14. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	V rámci měření		Mezi měřeními	
	Střední Index	CV%	Střední Index	CV%
1	2,6	13,1	2,6	8,1
2	1,6	7,5	1,4	7,1
3	0,2	5,0	0,2	25,0

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Střední Index	CV%	Střední Index	CV%
1	2,7	5,6	2,6	6,5
2	1,6	9,4	1,4	5,0
3	0,2	20,0	0,2	25,0

*Vliv na CV% při odchylkách (i velmi malých) střední hodnoty blízké nule je znám.

15. BIBLIOGRAFIE

1. Brucella Subgroup of the Northern Ireland Regional Zoonoses Group (2004). *Diagnosis and Management of Acute Brucellosis in Primary Care*.
2. Franco, María Pía; Mulder, Maximilian; Gilman, Robert H; Smits, Henk L (2007). *Human brucellosis*. The Lancet Infectious Diseases. 7 (12): 775–786.
3. Al Dahouk, Sascha; Nöckler, Karsten (July 2011). *Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy*. Expert Review of Anti-infective Therapy. 9 (7): 833–845.
4. Mantur, B.; Parande, A.; Amarnath, S.; Patil, G.; Walvekar, R.; Desai, A.; Parande, M.; Shinde, R.; Chandrashekar, M.; Patil, S. (2010). *ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Brucellosis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 83 (2): 314–318.
5. *Annual Epidemiological Report for 2016 Brucellosis – Surveillance Report*. European Centre for Disease Prevention and Control.
6. Paoli C.; Campisi E.; Gargani G. (1988). *Determinazione semiquantitativa delle IgM nella Brucellosi umana*. Atti XVII° Congresso Nazionale A.M.C.L.I. (Rimini 1988).
7. M.J. Corbel (principal author) (2006). *Brucellosis in humans and animals*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
8. D.T. Berman; B.L. Wilson; E. Moreno; R.D. Angus; L.M. Jones (Apr. 1980). *Characterization of Brucella abortus soluble antigen employed in immunoassay*. Journal of Clinical Microbiology; 355-362.
9. P.M. Muñoz; C.M. Marín; D. Monreal; D. Gonzalez; B. Garin-Bastuji; R. Díaz; R.C. Mainar-Jaime; I. Moriyón; J.M.Blasco (Jan. 2005). *Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 141-151.
10. B. Bonfini; G. Chiarenza; V. Paci; F. Sacchini; R. Salini; G. Vesco; S. Villari; K. Zilli; M. Tottarelli (2018). *Cross-reactivity in serological tests for brucellosis: a comparison for immune response of Escherichia coli O157:H7 and Yersinia Enterocolitica O:9 vs Brucella spp*. Veterinaria italiana 2018, 54 (2), 107-114.
11. J.S. García del Pozo; S.L. Ortuño; E. Navarro; J. Solera (2014). *Detection of IgM Anti-brucella Antibody in the Absence of IgGs: a challenge for the clinical interpretation of Brucella serology*. PLOS neglected Tropical Diseases. Volume 8, Issue 12, e3390.
12. P.R. Murray; K.S. Rosenthal; M.A. Pfaller (2009). *Microbiologia Medica Settima Edizione, Brucella*, 318-321



UPUTE ZA UPORABU

CHORUS Brucella IgM

Za kvalitativno određivanje IgM antitijela anti- Brucella

Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu

1. KORIŠTENJE

Imunoenzimska metoda za semikvantitativno određivanje antitijela IgM anti-Brucella u ljudskom serumu pomoću uređaja za jednokratnu uporabu koji se primjenjuje na instrumente Chorus i Chorus TRIO.

2. UVOD

Bruceloza je zarazna bolest uzrokovana malim gram-negativnim kokobacilima: postoji 7 vrsta, svaka s različitim biovarom, ali samo 4 su zarazne za ljude: B. abortus, B. melitensis, B. suis i B. canis.

Sve infekcije kod ljudi su posljedica izravnog dodira sa životinjama ili konzumiranja kontaminiranog mlijeka ili nepastoriziranih mliječnih proizvoda; prijenos s čovjeka na čovjeka je izrazito rijedak. Bruceloza, profesionalna bolest uzgajivača, veterinar, radnika u klaonicama i osoblja zaposlenog u laboratoriju, se uglavnom javlja zimi i u proljeće te razdoblje inkubacije traje između jednog i tri tjedna, ali može se produžiti čak na dva mjeseca. Radi se o sistemske bolesti koja može zahvatiti bilo koji organ i tkivo, čiji znakovi i simptomi nisu posebno specifični: povišena temperatura, znojenje; ponekad se mogu pojaviti limfadenomegalija, hepatomegalija i splenomegalija.

Praćenje razina antitijela može koristiti pri nadzoru stanja infekcije: tijekom prvih dana prisutna su samo IgM antitijela; s napredovanjem bolesti smanjuju se IgM antitijela i postaju dominantna IgG. Kod kroničnih bruceloza, IgG antitijela se mogu proizvoditi tijekom dugog razdoblja.

3. NAČELO METODE

Uređaj Chorus Brucella IgM je spreman za uporabu za određivanje antitijela IgM anti-Brucella, u instrumentima Chorus/Chorus TRIO.

Test se temelji na metodi testa ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Antigen se veže u krutoj fazi. Specifični imunoglobulini vežu se za antigen nakon inkubacije s razrijeđenim ljudskim serumom. Nakon pranja kako bi se uklonili proteini koji nisu reagirali, inkubacija se provodi s konjugatom koji se sastoji od ljudskih protu-IgM monoklonskih protutijela konjugiranih peroksidazom iz hrena. Nevezani konjugat se uklanja i peroksidazom se dodaje supstrat. Plava boja koja se razvija proporcionalna je koncentraciji specifičnih protutijela prisutnih u testnom serumu.

Jednokratni uređaji sadrže sve reagense za izvođenje testa kada se primjenjuju na Instrumente Chorus/Chorus TRIO.

Rezultati su izraženi u Indeksu (OD uzorak/Od cut-off).

4. MJERE OPREZA SAMO ZA IN VITRO DIJAGNOSTIČKU UPORABU.

Sa svim reagensima mora se postupati u skladu sa sigurnosnim standardima koji se obično usvajaju u laboratoriju.

Odlaganje ostataka: uzorci seruma, kalibratori i rabljene trake moraju se tretirati kao zaraženi ostaci i stoga se moraju zbrinuti u skladu s odredbama važećih zakona.

Upozorenja o osobnoj sigurnosti

1. Ne pipetirati ustima.
2. Prilikom rukovanja uzorcima koristite jednokratne rukavice i zaštitu za oči.
3. Temeljito operite ruke nakon što se uređaji umetnu u instrument Chorus/Chorus TRIO.
4. Što se tiče sigurnosnih značajki reagensa sadržanih u kompletu, pogledajte sigurnosno-tehničke listove (dostupne na zahtjev).
5. Neutralizirane kiseline i drugi tekući otpad moraju se dezinficirati dodavanjem natrijevog hipoklorita u dovoljnoj količini kako bi se dobila konačna koncentracija od najmanje 1%. Izloženost natrijevom hipokloritu na 1% tijekom 30 minuta trebala bi biti dovoljna kako bi se osigurala učinkovita dezinfekcija.
6. Svako izlijevanje potencijalno zaraženog materijala mora se odmah ukloniti upijajućim papirom, a zagađeno područje mora se dekontaminirati, na primjer s 1% natrijevog hipoklorita, prije nastavka rada. Ako je prisutna kiselina, natrijev hipoklorit se ne smije koristiti prije nego što se područje osuši.

Svi materijali koji se upotrebljavaju za dekontaminaciju svih slučajnih izlijevanja, uključujući rukavice, moraju se odbaciti kao potencijalno zaraženi otpad.

Nemojte stavljati u autoklavu materijale koji sadrže natrijev hipoklorit.

Analitička upozorenja

Prije uporabe pobrinite se da uređaji koji će se koristiti dostignu sobnu temperaturu (18-30 °C) i upotrijebite u roku od 60 minuta.

1. **Odbacite uređaje čiji je supstrat (jažica 4) plave boje.**
 2. Prilikom dodavanja uzorka u jažicu provjerite da je besprijeorno raspoređen na dnu.
 3. Provjerite stvarnu prisutnost reagensa u uređaju i cjelovitost samog uređaja. U reakciji nemojte koristiti uređaje kojima, na temelju vizualnog pregleda, nedostaju neki reagensi i/ili u čijim jažicama su vidljiva strana tijela.
 4. Uređaji se moraju koristiti zajedno s instrumentom Chorus/Chorus TRIO, strogo slijedeći Upute za uporabu i Korisnički priručnik instrumenta.
- Uporaba kompleta je moguća samo s ažuriranom verzijom softvera. Uvjerite se da se softver ugrađen u instrument podudara ili da je njegovo izdanje (Rel.) naprednije od onog navedenog u tablici objavljenoj na internetskoj stranici tvrtke Diesse**
(<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
5. Provjerite je li alat Chorus/Chorus TRIO ispravno postavljen (pogledajte Korisnički priručnik).
 6. Nemojte mijenjati crtični kod postavljen na ručku uređaja kako biste omogućili ispravno očitavanje instrumenta.

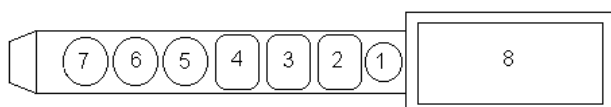
7. Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka.
8. Neispravni crtični kodovi mogu se unijeti ručno u instrument (pogledajte Korisnički priručnik).
9. Ne izlažite uređaje jakoj rasvjeti ili pari hipoklorita tijekom skladištenja i uporabe.
10. Nemojte koristiti jako hemolizirane, lipemične, ikterične uzorke seruma koji nije potpuno zgrušan ili s mikrobnim onečišćenjem i neaktivne na toplinu.
11. Ne koristiti uređaj nakon datuma isteka
12. **Provjerite ima li instrument vezu s puferom za ispiranje (Ref. 83606)**

5. SASTAV KOMPLETA I PRIPREMA REAGENSA

Komplet je dovoljan za 36 određivanja

DD UREĐAJI 6 paketa od po 6 uređaja

Opis:



Položaj 8: Prostor dostupan za oznaku crtičnog koda

Položaj 7: Prazan

Položaj 6: JAŽICA MIKROPLOČICE

Senzibilizirano antigenom B. abortus

Položaj 5: JAŽICA MIKROPLOČICE

Nije senzibilizirano.

Položaj 4: TMB SUPSTRAT

Sadržaj: Tetrametilbenzidin 0,26 mg/mL i H₂O₂ 0,01% stabiliziran u citratnom puferu 0,05 mol/L (pH 3,8).

Položaj 3: RAZRJEĐIVAČ ZA UZORKE

Sadržaj: Proteinska otopina, koja sadrži fenol 0,05%, Bronidox 0,02%, ljudska protutijela anti-IgG i pokazatelj koji otkriva prisutnost seruma.

Položaj 2: KONJUGAT

Sadržaj: Ljudska monoklonska protutijela IgM označena peroksidazom, u otopini fosfatnog pufera koja sadrži 0,05% fenola i 0,02% Bronidoxa.

Položaj 1: PRAZNA JAŽICA

Gdje se prebacuje uzorak.

Uporaba: uravnotežite jednu vrećicu na sobnoj temperaturi, otvorite vrećicu, izvadite potrebne uređaje; stavite ostale u vrećicu koja sadrži silika-gel, ispuštite zrak i **zatvorite** pritiskom na zatvaranje. Čuvajte na 2/8 °C.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Sadržaj: Razrijeđeni serum koji sadrži protutijela anti-Brucella i konzervans. Tekućina, spremna za uporabu.

CONTROL + POZITIVNA KONTROLA 1 x 0.425 ml

Sadržaj: Razrijeđeni serum koji sadrži protutijela anti-Brucella i konzervans. Tekućina, spremna za uporabu.

OSTALI MATERIJAL ZATRAŽEN, ALI NIJE DOSTAVLJEN:

- WASHING BUFFER / PUFER ZA ISPIRANJE **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 / OTOPINA ZA ČIŠĆENJE **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION / OTOPINA ZA DEZINFEKCIJU **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT / NEGATIVNA KONTROLA RAZRJEĐIVAČ UZORKA **REF** 83607
- Chorus/Chorus TRIO instrument
- Destilirana ili deionizirana voda
- Normalna laboratorijska staklena oprema: cilindri, epruvete itd.
- Mikro pipete u stanju točno preuzeti volumene od 50-200 µl.
- Rukavice za jednokratnu uporabu
- 5% otopina natrijevog hipoklorita
- Spremnici za prikupljanje potencijalno zaraženih materijala

6. NAČIN ČUVANJA I STABILNOST REAGENSA

Reagense treba čuvati na 2/8 °C. U slučaju nepravilne temperature skladištenja kalibracija se mora ponoviti, a ispravnost rezultata provjeriti pomoću kontrolnog seruma (vidi poglavlje 9.: Validacija testa).

Datum isteka je otisnut na svakoj komponenti i na vanjskoj etiketi pakiranja.

Reagensi imaju ograničenu stabilnost nakon otvaranja i/ili pripreme:

UREĐAJI	8 tjedana na 2/8 °C
KALIBRATOR	8 tjedana na 2/8 °C
POZITIVNA KONTROLA	8 tjedana na 2/8 °C

7. VRSTA UZORAKA I ČUVANJE

Tip uzorka čini serum dobiven iz krvi uzete normalnom venepunkcijom i obrađene prema potrebi standardnim laboratorijskim postupcima.

Nisu poznate posljedice uporabe drugih bioloških tekućina.

Svježi serum se može čuvati 4 dana na 2/8 °C; za dulja razdoblja čuvanja zamrznuti na -20 °C.

Izbjegavajte uporabu zamrzivača koji se sami odmrzavaju za čuvanje uzoraka. Nakon odmrzavanja pažljivo protresite uzorak prije doziranja.

Na kvalitetu uzorka može ozbiljno utjecati mikroba kontaminacija koja može dovesti do netočnih rezultata.

8. POSTUPAK

1. Otvorite omotnicu (strana na kojoj se nalazi zatvaranje na pritisak), uzmite potreban broj uređaja za obavljanje pregleda i pohranite ostale te zatvorite vrećicu nakon što ste ispuštili zrak.
2. Vizualno provjerite stanje uređaja prema smjernicama iz poglavlja 4 Analitička upozorenja.
3. Raspodijelite u jažicu broj 1 svakog uređaja 50 µl nerazrijeđenog seruma za analizu. Kod svake promjene proizvodne serije koristite uređaj za kalibrator.
4. Unesite uređaje u instrument Chorus/Chorus TRIO. Izvršite kalibraciju (ako je potrebno) i ispitivanje kako je navedeno u Korisničkom priručniku instrumenta.

9. VALIDACIJA TESTA

Koristite serum pozitivne provjere kako biste provjerili ispravnost dobivenog rezultata, obradivši ga kako je navedeno u Korisničkom priručniku instrumenta. Ako instrument pokazuje da

kontrolni serum ima vrijednost izvan granice prihvatljivosti, potrebno je ponovno provesti kalibraciju. Gore navedeni rezultati automatski će se ispraviti.

Ako je rezultat kontrolnog seruma i dalje izvan raspona prihvatljivosti, obratite se znanstvenoj podršci.

Tel: 0039 0577 319554
Faks: 0039 0577 366605
E-pošta: scientificsupport@diesse.it

10. TUMAČENJE TESTA

Instrument Chorus/Chorus TRIO daje rezultat u Indeksu (OD uzorak/OD cut-off).

Test na serumu koji se ispituje može se protumačiti na sljedeći način:

POZITIVAN: kada je rezultat > 1,2

NEGATIVAN: kada je rezultat < 0,8

SUMNJIV/DVOSMISLEN: kada je rezultat između 0,8 i 1,2

U slučaju dvojbene/dvosmislene rezultata ponovite test. Ako rezultat ostane upitan/dvosmislen, ponovite vađenje.

11. OGRANIČENJA TESTA

Sve dobivene vrijednosti zahtijevaju pažljivo tumačenje koje ne zanemaruje druge pokazatelje koji se odnose na istog pacijenta. Test se, naime, ne može koristiti sam za kliničku dijagnozu, a dobiveni rezultat se uvijek mora procijeniti zajedno s podacima iz povijesti bolesti pacijenta i / ili drugih dijagnostičkih istraživanja.

12. UNAKRIŽNO-REAKTIVNA

Nije moguće isključiti unakrižne reakcije izravnih antitijela protiv *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* i između raznih biovara *Brucella* spp. osim za *Brucella canis*.

13. KOMPARATIVNE STUDIJE

U jednom istraživanju analizirana su 99 uzorka s Kompletom Diesse i s još jednim drugim komercijalnim kompletom.

Podaci ispitivanja sažeti su u nastavku:

		Referenca		
		+	-	Ukupno
Diesse	+	15	1	16
	-	0	83	83
	Ukupno	15	84	99

Percent Positive Agreement/Postotak pozitivnog slaganja

(~Dijagnostička osjetljivost):

100% CI_{95%}: 79.6- 99.7

Percent Negative Agreement/Postotak negativnog slaganja:

(~Dijagnostička specifičnost):

98.8% CI_{95%}: 93.5-99.8

Stupanj podudaranja između dviju metoda je optimalan s vrijednošću K (Cohenov koeficijent) od 0, 96.

14. PRECIZNOST I PONOVLJIVOST

Uzorak	Unutar sesije		Između sesija	
	Prosjeak Index	CV%	Prosjeak Index	CV%
1	2.6	13.1	2.6	8.1

2	1.6	7.5	1.4	7.1
3	0.2	5.0	0.2	25.0*

Uzorak	Među proizvodnim serijama		Među instrumentima	
	Prosjeak Index	CV%	Prosjeak Index	CV%
1	2.7	5.6	2.6	6.5
2	1.6	9.4	1.4	5.0
3	0.2	20.0*	0.2	25.0*

*Poznat je učinak na CV% kod varijacija (čak i neznatnih) prosječne vrijednosti blizu nule.

15. BIBLIOGRAFIJA

- Brucella Subgroup of the Northern Ireland Regional Zoonoses Group (2004). *Diagnosis and Management of Acute Brucellosis in Primary Care*.
- Franco, María Pía; Mulder, Maximilian; Gilman, Robert H; Smits, Henk L (2007). *Human brucellosis*. The Lancet Infectious Diseases. 7 (12): 775–786.
- Al Dahouk, Sascha; Nöckler, Karsten (July 2011). Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy. Expert Review of Anti-infective Therapy. 9 (7): 833–845.
- Mantur, B.; Parande, A.; Amarnath, S.; Patil, G.; Walvekar, R.; Desai, A.; Parande, M.; Shinde, R.; Chandrashekar, M.; Patil, S. (2010). *ELISA versus Conventional Methods of Diagnosing Endemic Brucellosis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 83 (2): 314–318.
- Annual Epidemiological Report for 2016 Brucellosis – Surveillance Report*. European Centre for Disease Prevention and Control.
- Paoli C.; Campisi E.; Gargani G. (1988). *Determinazione semiquantitativa delle IgM nella Brucellosi umana*. Atti XVII° Congresso Nazionale A.M.C.L.I. (Rimini 1988).
- M.J. Corbel (principal author) (2006). *Brucellosis in humans and animals*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- D.T. Berman; B.L. Wilson; E. Moreno; R.D. Angus; L.M. Jones (Apr. 1980). *Characterization of Brucella abortus soluble antigen employed in immunoassay*. Journal of Clinical Microbiology; 355-362.
- P.M. Muñoz; C.M. Marín; D. Monreal; D. Gonzalez; B. Garin-Bastuji; R. Díaz; R.C. Mainar-Jaime; I. Moriyón; J.M. Blasco (Jan. 2005). *Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 141-151.
- B. Bonfini; G. Chiarenza; V. Paci; F. Sacchini; R. Salini; G. Vesco; S. Villari; K. Zilli; M. Tottarelli (2018). *Cross-reactivity in serological tests for brucellosis: a comparison for immune response of Escherichia coli O157:H7 and Yersinia Enterocolitica O:9 vs Brucella spp*. Veterinaria italiana 2018, 54 (2), 107-114.
- J.S. García del Pozo; S.L. Ortuño; E. Navarro; J. Solera (2014). *Detection of IgM Anti-brucella Antibody in the Absence of IgGs: a challenge for the clinical interpretation of Brucella serology*. PLOS neglected Tropical Diseases. Volume 8, Issue 12, e3390.
- P.R. Murray; K.S. Rosenthal; M.A. Pfaller (2009). *Microbiologia Medica Settima Edizione, Brucella*, 318-321



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



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione CS Datum výroby	FR Date de fabrication EL Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico HR Datum proizvodnje
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro CS Použití do	FR Utiliser jusqu'à EL Ημερομηνία λήξης PT Prazo de validade HR Upotrijebiti do
	EN Do not reuse ES No reutilizar IT Non riutilizzare CS Nepoužívejte opakovaně	FR Ne pas réutiliser EL Μην κάνετε επαναληπτική χρήση PT Não reutilizar HR Ne koristiti ponovno
	EN Caution, consult accompanying documents ES Atención, ver instrucciones de uso IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso CS Pozor, nahlédněte do původních dokumentů	FR Attention voir notice d'instructions EL Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα PT Atenção, consulte a documentação incluída HR Pozor, vidí upute za uporabu
	EN Manufacturer ES Fabricante IT Fabbicante CS Výrobce	FR Fabricant EL Κατασκευαστής PT Fabricante HR Proizvođač
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi CS Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů	FR Contenu suffisant pour "n" tests EL Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios HR Sadržaj dovoljan za „tot.“ testova
	EN Temperature limitation ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura CS Teplotní omezení	FR Limites de température EL Περιορισμοί θερμοκρασίας PT Limites de temperatura HR Temperaturne granice
	EN Consult Instructions for Use ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso CS Přečtěte si návod k použití	FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης PT Consulte as instruções de utilização HR Pogledati upute za uporabu
	EN Biological risks ES Riesgo biológico IT Rischio biologico CS Biologická rizika	FR Risques biologiques EL Βιολογικοί κίνδυνοι PT Risco biológico HR Biološka opasnost
	EN Catalogue number ES Número de catálogo IT Numero di catalogo CS Katalogové číslo	FR Référence du catalogue EL Αριθμός καταλόγου PT Referência de catálogo HR Kataloški broj
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro CS Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro EL In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro HR Medicinski proizvod za dijagnostiku in vitro
	EN Batch code ES Código de lote IT Codice del lotto CS Kód šarže	FR Code du lot EL Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote HR Šifra serije
	EN CE marking of conformity ES Marcado CE de conformidad IT Marcatura CE di conformità CS Označení shody CE	FR Marquage de conformité CE EL Σημανση συμμορφωσης CE PT Marcação CE de conformidade HR CE oznaka sukladnosti