

CHORUS

Tick-Borne Encephalitis Virus IgG


DIESSE
REF 81276


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

	Capitolo Section Kapitola Kapitel Capítulo Chapitre Capítulo Capitol Κεφάλαιο
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Změny zavedené v aktuální revizi In der aktuellen Revision eingeführte Änderungen Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Mudanças introduzidas na revisão atual Modificări introduse în actuala revizuire Αλλαγές που εισάγονται στην τρέχουσα αναθεώρηση	12



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La meningoencefalite (Tick-borne encephalitis, TBE) è una infezione virale che attacca il Sistema Nervoso Centrale, causata da un arbovirus appartenente alla famiglia dei Flaviviridae. I portatori del virus sono animali presenti in ambienti boschivi e la trasmissione, nell'uomo e negli animali, avviene attraverso la zecca o, eccezionalmente, a seguito del consumo di latte infetto non pastorizzato.

La malattia, nel 70% dei casi circa, si manifesta con un'infezione senza o con sintomi poco rilevanti; nel restante 30%, dopo un periodo di incubazione di 3-14 giorni, si manifestano sintomi influenzali aspecifici. Dopo alcuni giorni di remissione può svilupparsi la seconda fase caratterizzata da mal di testa acuti, oftalmoplegia, vomito, malessere, sintomi meningei, paralisi del nervo craniale e paresi degli arti. La fase acuta di meningoencefalite può durare da una a tre settimane. In pazienti più anziani si può osservare un decorso più severo della malattia, spesso con effetti permanenti.

La diagnosi si basa sull'anamnesi del paziente, il quadro clinico ed i risultati dei test di laboratorio come la determinazione di anticorpi IgM e IgG specifici. Gli anticorpi IgG proteggono l'organismo da nuove infezioni e possono essere rilevati per un lungo periodo (alcuni anni) dopo l'infezione o la vaccinazione.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgG anti-TBE Virus, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con campione umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi anti-IgG umane coniugati con perossidasi di rafano.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel campione in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus/Chorus TRIO. I risultati sono espressi in Unità Arbitrarie (AU/ml).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

Smaltimento dei residui: i campioni, 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 Schede 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. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

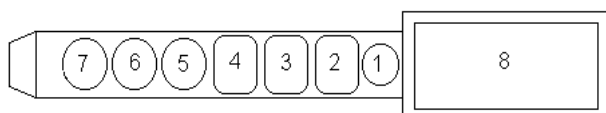
5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

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 nativo purificato e inattivato di Tick-borne encephalitis virus

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione tampone proteica

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi anti-IgG umane marcati con perossidasi.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il campione non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella

busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.450 ml

Contenuto: anticorpi IgG anti-TBE Virus e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.900 ml

Contenuto: anticorpi IgG anti-TBE Virus e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il controllo (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 citrato ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

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

Il campione fresco può essere mantenuto per 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.

- Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
- Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE **50 µl/dispositivo**
 CALIBRATORE **130 µl/dispositivo**
 CONTROLLO POSITIVO **130 µl/dispositivo**

- Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Unità Arbitrarie (AU/ml) calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO: quando il risultato è > 22

NEGATIVO: quando il risultato è < 18

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 18 e 22

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. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 4-200.0 AU/ml.

Per campioni > 200.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. CROSS-REATTIVI

È nota la possibile interferenza di anticorpi anti-Flavivirus.

13. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 94 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Totale	36	58	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.92.

14. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

15. BIBLIOGRAFIA

- K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794
- Anu Ja"askela"inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342
- Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N., Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

For the semiquantitative determination of anti-Tick-Borne Encephalitis Virus IgG antibodies

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgG class antibodies against Tick-Borne Encephalitis Virus in human serum using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Tick-borne encephalitis (TBE) is a viral infectious disease, which affects Central Nervous System, caused by an arbovirus from the family *Flaviviridae*. Reservoir hosts of the virus are forest animals and the transmission, to humans and animals, occurs through tick bites or, exceptionally, by consumption of infected heat untreated milk. Up to 70% of infections are clinically inapparent or with mild symptoms; in the remaining 30% of cases, after an incubation period of 3-14 days, non-specific flu-like symptoms occur. After some days of remission, the second phase of the disease develops. This phase is characterized by aggravated headaches, ophtalmoplegia, vomiting, malaise, meningeal symptoms, cranial nerve paralysis and paresis of the limbs. An acute stage of tick-borne encephalitis lasts 1 to 3 weeks. More severe course of the disease, often with lasting ill effects, can be observed in senior patients.

The diagnosis is based on anamnesis, clinical picture and results of laboratory tests such as the detection of specific IgM and IgG antibodies. The IgG antibodies protect the organism against a new infection and they can be detected over a long period (several years) after the past infection or vaccination.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG device is ready to use for the detection of IgG antibodies against TBE-Virus, in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

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

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

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus/Chorus TRIO instruments. The results are expressed in Arbitrary Units (AU/ml).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

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

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

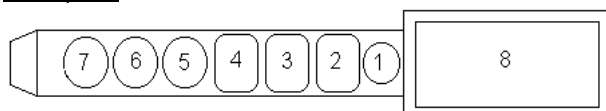
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

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 Tick-borne encephalitis virus purified and inactivated native 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 buffer solution.

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-human IgG antibodies labelled with horseradish peroxidase.

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted sample.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.450 ml

Contents: anti-TBE Virus IgG antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.900 ml

Contents: anti-TBE Virus IgG antibodies and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

The fresh sample may be stored for 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 the following volumes in well no. 1 of each device:

SAMPLE	50 µl/device
CALIBRATOR	130 µl/device
POSITIVE CONTROL	130 µl/device

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in Arbitrary Units (AU/ml) calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

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

POSITIVE: when the result is > 22

NEGATIVE: when the result is < 18

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 18 and 22

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

11. LIMITATIONS

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

The test, indeed, cannot 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. CALIBRATION RANGE

Calibration range 4-200.0 AU/ml.

For samples > 200.0 AU/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (PF83607-not supplied with the kit).

12. CROSS-REACTIONS

It is known the possible cross-reaction with anti-Flavivirus antibodies.

13. METHOD COMPARISON

In an experimentation 94 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Total	36	58	94

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.92.

14. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

15. REFERENCES

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794
2. Anu Ja'ä'skela'inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342
3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N.,¹ Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

PRO semikvantitativní STANOVENÍ IgG protilátek proti viru klíšťové encefalitidy

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro semikvantitativní stanovení IgG protilátek proti viru klíšťové encefalitidy (TBEV) v lidském séru a citrátové za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Klíšťová encefalitida (TBE) je lidské infekční virové onemocnění, které napadá centrální nervový systém. Je způsobena arbovirem patřícím do čeledi Flaviviridae. Nosiči viru jsou zvířata z lesního prostředí a k přenosu na člověka a na zvířata dochází prostřednictvím klíšťat nebo ve výjimečných případech po konzumaci nepasterizovaného infikovaného mléka.

Onemocnění se zhruba v 70% případů projevuje infekcí bez příznaků nebo s nevýznamnými příznaky; ve zbylých 30% se po inkubační době 3-14 dní projevují nespecifické příznaky chřipky. Po několika dnech remitence se může rozvinout druhá fáze, která je charakterizována akutními bolestmi hlavy, oftalmoplegií, zvracením, nevolností, příznaky meningitidy, paralýzou kraniálního nervu a parézou končetin. Akutní fáze meningoencefalitidy může trvat jeden až tři týdny. U starších pacientů může být průběh onemocnění závažnější, často s trvalými následky.

Diagnóza se zakládá na anamnéze pacienta, klinickém obrazu a výsledcích laboratorních vyšetření jako stanovení specifických protilátek IgM a IgG. IgG protilátky chrání organismus před novými infekcemi a mohou být detekovány po dlouhou dobu (několik let) po infekci nebo očkování.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG je připraven k použití pro zkoušku na IgG protilátky proti TBE Viru, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO. Výsledky jsou vyjádřeny jako Arbitrární jednotky (AU/ml).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

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

Opatření pro správné provedení testu

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

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

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

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

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

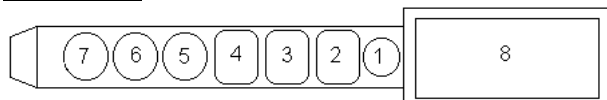
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
8. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
12. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích.

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená nativním purifikovaným a inaktivovaným antigenem viru klíšťové encefalitidy

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

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

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Roztok bílkovinného pufru

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: Antilidské IgG protilátky značené křenovou peroxidázou.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam uživatel musí umístit nezřaděný vzorek.

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

Obsahuje: protilátky IgG proti TBE Viru a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.900 ml

Obsahuje: protilátky IgG proti TBE Viru a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Typ vzorku je představován sérem citrátovou získanými z krve běžným odběrem ze žíly, s nimiž je zacházeno podle požadavků standardních laboratorních postupů.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

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

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

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

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Umístěte do jamky č. 1 každého zařízení:

VZOREK	50 µl / zařízení
KALIBRÁTOR	130 µl / zařízení
POZ. KONTROLA	130 µl / zařízení

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.450 ml

4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus/Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v Arbitrárních Jednotkách (AU/ml), vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Test na zkoumaném vzorku lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 22

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 18

SPORNÝ/NEJASNĚ PRO VSECHNY HODNOTY MEZI 18 a 22

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

11. OMEZENÍ

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

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

kalibrační rozmezí 4- 200.0 AU/ ml

pro vzorky > 200.0 AU/ml znova vzorek otestujte nareďený v redidle pro negativní kontrolní vzorek (pf83607 – se v rámci soupravy nedodává).

7. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Je známá možná interference protilátek proti flaviviru.

8. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 94 Vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Celkem	36	58	94

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Negativní shoda v procentech: (~ diagnostická specifčnost):

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 0.92.

9. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	CV %	Průměr (AU/ml)	CV %
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (AU/ml)	CV %	Průměr (AU/ml)	CV %
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

10. REFERENČNÍ LITERATURA

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794.
2. Anu Ja“a“skela“inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342.
3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N.,¹ Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS **Tick-Borne Encephalitis Virus IgG**

Zur semiquantitativen Bestimmung von Anti-Tick-Borne Encephalitis Virus IgG Antikörpern

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur semiquantitativen Bestimmung von Anti-Tick-Borne Encephalitis Virus Antikörpern der Klasse IgG im humanen Serum und Citrat mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

Die Frühsommer-Meningoenzephalitis oder Tick-borne encephalitis (TBE) ist eine menschliche Viruserkrankung, die das Zentralnervensystem angreift. Sie wird durch ein Arbovirus verursacht, das zur Familie der Flaviviridae gehört. Virusträger sind in Waldgebieten lebende Tiere und die Übertragung auf Mensch und Tier erfolgt über die Zecke oder in Ausnahmefällen infolge des Konsums infizierter, nicht pasteurisierter Milch.

Die Erkrankung tritt in ca. 70% der Fälle mit einer Infektion auf, die ohne oder mit kaum nennenswerten Symptomen einhergeht. Bei den restlichen 30% der Fälle treten nach einer Inkubationszeit von 3-14 Tagen unspezifische Grippe-symptome auf. Nach einigen Tagen der Remission kann sich eine zweite Phase entwickeln, die durch akute Kopfschmerzen, Ophthalmoplegie, Erbrechen, Unwohlsein, Meningitissymptome, Lähmung von Hirnnerven und Lähmung der Gliedmaßen gekennzeichnet ist. Die akute Phase der Meningoenzephalitis kann eine bis drei Wochen dauern. Der Krankheitsverlauf kann bei älteren Patienten schwerer ausfallen, oftmals mit bleibenden Schäden.

Die Diagnose stützt sich auf die Anamnese, das klinische Erscheinungsbild und Labortests zur Bestimmung der spezifischen IgM und IgG Antikörper. IgG Antikörper schützen den Organismus vor einer erneuten Infektion und können über einen langen Zeitraum (einige Jahre) nach der Infektion bzw. Impfung festgestellt werden.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Anti-TBE Virus Antikörpern der Klasse IgG in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Das Antigen wird an die Festphase gebunden. In Folge der Inkubation mit verdünnter Probe binden die spezifischen Immunoglobuline an das Antigen. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt

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

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

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Arbitrary Units (AU/ml).

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

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

- Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
- Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
- Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.

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

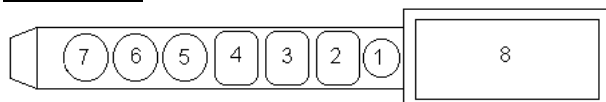
- Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
- Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
- Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
- Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
- Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
- Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koaguliertem Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
- Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
- Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

13. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen.

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit nativem, gereinigtem und inaktiviertem Antigen des Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus sensibilisiert

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Protein-Pufferlösung

Position 2: KONJUGAT

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

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener die unverdünnte Probe geben.

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

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.450 ml

Inhalt: Anti-TBE Virus IgG Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.900 ml

Inhalt: Anti-TBE Virus IgG Antikörpern und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

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

14. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

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

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

15. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum und Citrat, das aus Blut gewonnen wird, welches durch eine normale Punktion von

Venen entnommen und entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wurde.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Probe kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei 20 °C eingefroren.

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

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

16. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls geben:

PROBE	50 µl / Testmodul
KALIBRATOR	130 µl / Testmodul
POSITIVE KONTROLLE	130 µl / Testmodul

4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

17. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses die positive Kontrolle verwenden. Es wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

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

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

18. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in Arbitrary Units (AU/ml), die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

Der Test der untersuchten Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis > 22

NEGATIV: bei Ergebnis < 18

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 18 und 22

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

19. GRENZEN DES TESTS

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

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

20. KALIBRIERBEREICH

kalibrierbereich 4–200.0 AU/ml.

bei proben >200.0 AU/ml den test wiederholen und die probe zuvor mit negativer kontrolle/probenverdunnungsmedium (pf83607- nicht im testsatz enthalten) verdünnen.

21. KREUZREAKTIONEN

Die mögliche Kreuzreaktion mit Anti-Flavivirus ist bekannt.

22. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 94 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Insgesamt	36	58	94

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Negative Übereinstimmung: (~Diagnostische Sensitivität):

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 0.92 optimal.

23. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (AU/ml)	CV %	Mittelwert (AU/ml)	CV %
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (AU/ml)	CV %	Mittelwert (AU/ml)	CV %
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

24. LITERATUR

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne

IO-09/392-C IFU 81276 – Ed. 11.04.2023

- encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis
Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794.
2. Anu Ja"skela"inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342.
 3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N.,¹ Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

**Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgG έναντι του ιού της
κροτωγενούς εγκεφαλίτιδας**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgG έναντι του ιού της κροτωγενούς εγκεφαλίτιδας σε ανθρώπινο ορό με κιτρικό αντιπηκτικό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κροτωγενής εγκεφαλίτιδα (TBE) προκαλείται από έναν ιογενή μολυσματικό παράγοντα που πλήττει το κεντρικό νευρικό σύστημα του ανθρώπου. Οφείλεται σε έναν αρμποιό της οικογένειας των Flaviviridae. Οι φορείς του ιού είναι ζώα που διαβιούν σε δασώδεις περιοχές και η μετάδοση, στον άνθρωπο και στα ζώα, προκαλείται μέσω του κρότωνα ή, σε σπάνιες περιπτώσεις, κατόπιν κατανάλωσης μολυσμένου μη παστεριωμένου γάλακτος.

Στο 70% των περιπτώσεων περίπου, η νόσος εκδηλώνεται με ασυμπτωματική λοίμωξη ή με ήπια συμπτώματα. Στο υπόλοιπο 30%, μετά από διάστημα επώασης 3-14 ημερών, εκδηλώνονται μη ειδικά συμπτώματα κοινού κρυολογήματος. Μετά από μερικές ημέρες υποχώρησης των συμπτωμάτων μπορεί να εκδηλωθεί η δεύτερη φάση της νόσου, που χαρακτηρίζεται από οξεία κεφαλαλγία, οφθαλμοπληγία, έμετο, κακουχία, μηνιγγικά σημεία, παράλυση του κρανιακού νεύρου και πάρεση των άκρων. Η οξεία φάση της μηνιγγοεγκεφαλίτιδας μπορεί να διαρκέσει από μία έως τρεις εβδομάδες. Σε πιο ηλικιωμένους ασθενείς, η πορεία της νόσου μπορεί να είναι πιο βαριά, συχνά με μη αναστρέψιμες βλάβες.

Η διάγνωση βασίζεται στο ιστορικό του ασθενή, στην κλινική εικόνα και στα αποτελέσματα εργαστηριακών εξετάσεων όπως είναι ο προσδιορισμός ειδικών αντισωμάτων IgM και IgG. Τα αντισώματα IgG προστατεύουν τον οργανισμό από νέες μολύνσεις και μπορούν να ανιχνευθούν για μεγάλο διάστημα (μερικά χρόνια) μετά τη λοίμωξη ή τον εμβολιασμό

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG έναντι του ιού TBE στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Αιθαίρετες Μονάδες (AU/ml).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

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

απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση, τα σετ πρέπει να αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

1. Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ίδιου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.

Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που έχει εγκατασταθεί στον αναλυτή έχει την ίδια ή μεταγενέστερη ημ/νία έκδοσης (Rel.) από την αναφερόμενη ημ/νία στον κατάλογο που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

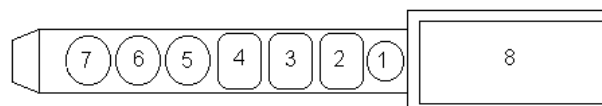
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυπαιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
12. Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ KIT ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα.

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με κεκαθαρμένο και αδραντοποιημένο εγγενές αντιγόνο του ιού της κροταγενούς εγκεφαλίτιδας

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό ρυθμιστικό διάλυμα

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα αντισώματα αντι-IgG μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ ο χειριστής πρέπει να τοποθετήσει το μη αραιωμένο δείγμα.

Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζονται, επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε** πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Διατηρείτε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

1 x 0.450 ml

Περιεχόμενο: αντισώματα IgG έναντι του ιού TBE και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1 x 0.900 ml

Περιεχόμενο: αντισώματα IgG έναντι του ιού TBE και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

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

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

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

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

Το νωπό δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C.

Αποφύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για την διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Στην κυψελίδα αρ. 1 κάθε συσκευής, τοποθετήστε:

ΔΕΙΓΜΑ	50 µl / συσκευή
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	130 µl / συσκευή
ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	130 µl / συσκευή

4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήστην της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του θετικού μάρτυρα εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Arbitrary Units (AU/ml) που υπολογίζονται βάσει ενός γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας για το εξεταζόμενο δείγμα μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 22

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 18

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 18 και 22

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

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

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

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 4-200.0 AU/ml.

Για δείγματα >200.0 AU/ml επαναλάβετε το τεστ αιώνοντας πρώτα το δείγμα σε Negative Control/Sample Diluent (Αρνητικό Έλεγχο/Δείγμα Διαλύτη) (PF83607- δεν παρέχεται με το κιτ).

13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Είναι γνωστή η πιθανή παρεμβολή των anti-Flavivirus [αντι-Φλαβοϊού] αντισωμάτων.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 94 δείγματα με το κιτ Diesse και με ένα άλλο κιτ του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Σύνολο	36	58	94

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0.92.

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5

3	13.3	5.0	14.9	5.2
---	------	-----	------	-----

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευιών	
	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%	Μέση Τιμή (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794.
2. Anu Jaakkola¹, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342.
3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N., Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus en suero citrato humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La encefalitis transmitida por garrapatas (TBE, por sus siglas en inglés: Tick Borne Encephalitis) es un agente infeccioso viral humano que afecta al sistema nervioso central. Está causado por un arbovirus perteneciente a la familia Flaviviridae. Los portadores del virus son animales presentes en áreas boscosas y, en el hombre y en los animales, el virus se transmite a través de las garrapatas o, de forma excepcional, por la ingestión de leche infectada no pasteurizada.

En aproximadamente el 70 % de los casos la enfermedad se manifiesta con una infección sin o con síntomas poco relevantes; en el 30 % restante se manifiestan síntomas gripales inespecíficos tras un periodo de incubación de 3 a 14 días. Pasados algunos días de remisión se puede desarrollar la segunda fase que se caracteriza por dolor de cabeza agudo, oftalmoplejía, vómito, malestar, síntomas meníngeos, parálisis del nervio craneal y paresia de las extremidades. La fase aguda de meningoencefalitis puede durar de una a tres semanas. En pacientes ancianos se puede observar una evolución más severa de la enfermedad, a menudo con efectos permanentes.

El diagnóstico se basa en la anamnesis del paciente, en el cuadro clínico y en los resultados de los análisis de laboratorio, como la determinación de anticuerpos IgM y IgG específicos. Los anticuerpos IgG protegen al organismo contra nuevas infecciones y se pueden detectar durante un largo periodo (algunos años) después de la infección o la vacunación.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgG anti-TBE Virus, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con la muestra humana diluida las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno. Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado,

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

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

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

El resultado se expresa Unidades Arbitrarias (AU/ml).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

Desecho de los residuos: las muestras, 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.

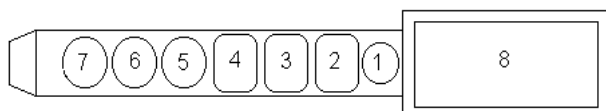
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten 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. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
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 nativo purificado e inactivado de virus de encefalitis transmitida por garrapatas.

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 tampón proteica

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos anti-IgG humanos marcados con peroxidasa.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa la muestra sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.450 ml

Contenido: anticuerpos IgG anti-TBE Virus y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.900 ml

Contenido: anticuerpos IgG anti-TBE Virus y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

La muestra fresca 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.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar en el pocillo n°1 de cada dispositivo:

MUESTRA **50 µl / dispositivo**
 CALIBRADOR **130 µl / dispositivo**
 CONTROL POSITIVO **130 µl / dispositivo**

4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en Unidades Arbitrarias (AU/ml), calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

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

POSITIVO cuando el resultado es > 22

NEGATIVO cuando el resultado es < 18

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 18 y 22

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. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 4-200.0 AU/ml.

Para muestras >200.0 AU/ml repetir la prueba y prediluir la muestra en Negative Control/ Sample Diluent (PF83607 – no suministrado con el kit).

13. REACCIONES CRUZADAS

Es conocida la posible interferencia de anticuerpos anti-Flavivirus.

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 94 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Total	36	58	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.92.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

16. BIBLIOGRAFÍA

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794
2. Anu Ja"ä"skela"inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342
3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N.,¹ Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

**Pour la détermination semi-quantitative
anticorps IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus**

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps de classe IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Le Tick-borne encephalitis (TBE) ou Virus de la méningo-encéphalite à tiques (VMET) est un agent infectieux viral humain qui s'attaque au système nerveux central. Il provient d'un arbovirus appartenant à la famille des Flaviviridae. Les porteurs du virus sont les animaux présents dans les environnements boisés et la transmission, à l'homme et aux animaux, intervient par l'intermédiaire des tiques ou, exceptionnellement, après consommation de lait infecté et non pasteurisé.

Dans 70% des cas, la maladie se manifeste sans symptômes particulièrement importants voire sans aucun symptôme; dans les 30% restants, à l'issue d'une période d'incubation de 3 à 14 jours, des symptômes grippaux a-spécifiques se manifestent. Au bout de quelques jours de rémission, peut ensuite intervenir la deuxième phase qui se caractérise par des maux de tête aigus, une ophtalmoplégie, des vomissements, une sensation de malaise, des symptômes méningés, une paralysie du nerf crânien et une parésie des membres. La phase aiguë de méningo-encéphalite peut durer de une à trois semaines. Chez les patients les plus âgés, on peut observer une évolution plus sévère de la maladie, souvent avec des effets permanents.

Le diagnostic repose sur les antécédents médicaux du patient, sur le cadre clinique et sur les résultats des tests de laboratoire tels que la recherche des anticorps IgM et IgG spécifiques. Les anticorps IgG protègent l'organisme des nouvelles infections et peuvent rester longtemps présents (quelques années) après l'infection ou la vaccination.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG est prêt à l'usage pour la détermination des anticorps IgG anti-TBE Virus, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

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

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

Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps

monoclonaux anti-IgG humaines conjugués à de la peroxydase de raifort. Le conjugué qui ne s'est pas lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

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

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

Le résultat est exprimé en Unités Arbitraires (AU/ml).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

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

Précautions analytiques

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

1. Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.

- En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
- Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
- Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.

L'utilisation du kit est possible seulement avec une version mise à jour. S'assurer que le logiciel installé dans le dispositif corresponde ou qu'il ait une version (Rel.) supérieure de celle reportée dans le tableau publié sur le site internet Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

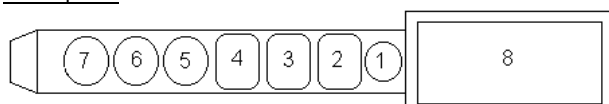
- S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
- Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
- Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
- Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
- Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
- Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum non complètement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
- Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
- Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description:



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

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec antigène natif purifié et inactif de Tick- borne encephalitis virus

Position 5 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu : solution tampon protéique

Position 2 : CONJUGUÉ

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

Position 1 : PUIITS VIDE

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

Emploi : équilibrer un sachet à température ambiante,

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

CALIBRATOR CALIBRATEUR

1 x 0.450 ml

Contenu : anticorps IgG anti-TBE Virus et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.900 ml

Contenu : anticorps IgG anti-TBE Virus et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

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

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

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

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

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

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

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

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

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

8. PROCÉDURE

- Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
- Dispenser dans le puits n°. 1 de chaque dispositif à analyser :

ÉCHANTILLON	50 µl / dispositif
CALIBRATEUR	130 µl / dispositif
CONTROLE POSITIF	130 µl / dispositif

- Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

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

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

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en Unités Arbitraires (AU/ml) calculées sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

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

POSITIF quand le résultat est > 22

NÉGATIF quand le résultat est < 18

DOUTEUX/EQUIVOQUE quand le résultat est compris entre 18 et 22

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

11. LIMITES DU TEST

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

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

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 4-200.0 AU/ml.

Pour les échantillons >200.0 AU/ml, répéter le test en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control/Sample Diluent (PF83607 - non fourni avec le coffret).

13. RÉACTIONS CROISÉES

On connaît la possible réaction croisée des anticorps anti-Flavivirus.

14. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 94 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

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

		Référence		
		+	-	Total
	Diesse	34	2	36
	-	2	56	58
	Total	36	58	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.92.

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

16. BIBLIOGRAPHIE

- K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794.
- Anu Ja“a“skela“inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen

Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342.

3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N., Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

Para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semiquantitativa dos anticorpos IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus no soro citrato humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A TBE - Tick Borne Encephalitis (Encefalite transmitida por carrapatos) é provocada por um agente infeccioso viral humano que ataca o Sistema Nervoso Central. É causado por um arbovírus pertencente à família Flaviviridae. Os portadores do vírus são animais em ambientes florestados e a transmissão em seres humanos e animais ocorre por meio da carrapa ou, excepcionalmente, após o consumo de leite infetado não pasteurizado.

A doença, em cerca de 70% dos casos, manifesta-se com uma infecção sem sintomas ou com sintomas menores; nos restantes 30%, após um período de incubação de 3 a 14 dias, manifestam-se sintomas de gripe específicos. Após alguns dias de remissão, pode desenvolver-se a segunda fase caracterizada por dores de cabeça agudas, oftalmoplegia, vômitos, mal-estar, sintomas de meningite, paralisia do nervo craniano e paresia dos membros. A fase aguda da meningoencefalite pode durar de uma a três semanas. Em doentes com idade mais avançada, é possível observar uma evolução mais grave da doença, muitas vezes com efeitos permanentes.

O diagnóstico baseia-se na anamnese do doente, no quadro clínico e nos resultados dos testes laboratoriais, tal como a determinação de anticorpos IgM e IgG específicos.

Os anticorpos IgG protegem o organismo contra novas infecções e podem ser detetados por um longo período (alguns anos) após a infecção ou a vacinação.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgG anti-TBE Virus, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

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

Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por

anticorpos monoclonais anti-IgG humanos conjugados com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-se o substrato para a peroxidase. A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes na amostra examinada.

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

O resultado é expresso em Unidades Arbitrárias (AU/ml).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

Advertências analíticas

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

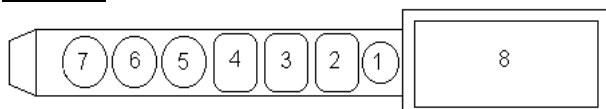
1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem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

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada.

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com antígeno nativo purificado e inativado de vírus de encefalite transmitida por carraças

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução tampão proteica

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos anti-IgG humanas marcados com peroxidase.

Posição 1: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar a amostra não diluída.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.450 ml

Conteúdo: anticorpos IgG anti-TBE Virus e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0.900 ml

Conteúdo: anticorpos IgG anti-TBE Virus e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

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

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro citrato, obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

A amostra fresca pode ser conservada durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C.

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

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

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	50 µl / dispositivo
CALIBRADOR	130 µl / dispositivo
CONTROLO POSITIVO	130 µl / dispositivo

4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em Unidades Arbitrárias (AU/ml) calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

O teste na amostra examinada pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 22

NEGATIVO quando o resultado for < 18

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 18 e 22

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da

anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 4-200.0 AU/ml.

Para amostras >200.0 AU/ml, repetir o teste diluindo primeiramente a amostra com o Negative Control/Sample Diluent (PF83607- não fornecido com o kit).

13. REAÇÕES CRUZADAS

É conhecida a possível reação cruzada resultante de anticorpos anti-Flavivirus.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 94 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado. Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Total	36	58	94

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica): 94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica): 96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.92.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaios	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

16. BIBLIOGRAFIA

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794
2. Anu Ja“a“skela“inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342
3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N., Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821–2829.



INSTRUCIUNI DE UTILIZARE

CHORUS
Tick-Borne Encephalitis Virus IgG

Pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor de clasa IgG anti-Tick-Borne Encephalitis Virus în serul citratat umană, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Encefalita transmisă de căpușe (TBE) este un agent infecțios viral uman care atacă sistemul nervos central. Este cauzată de un arbovirus ce aparține familiei de Flaviviridae. Purtătorii virusului sunt animale care trăiesc în zone împădurite, iar transmisia la om și la animale se realizează prin intermediul căpușelor sau, în mod excepțional, după consumul de lapte infectat nepasteurizat.

Afecțiunea, în aprox. 70% dintre cazuri, se manifestă cu o infecție fără sau cu simptome puțin relevante; în cazul celorlalte 30 de procente, după perioada de incubație de 3-14 zile, se manifestă simptome gripale nespecifice. După câteva zile de remisiune, se poate dezvolta cea de-a doua fază caracterizată de cefalee acută, oftalmoplegie, vărsături, stare de rău, simptome de meningită, paralizia nervului cranian și pareza membrelor. Faza acută a meningoencefalitei poate dura de la una la trei săptămâni. La pacienții vârstnici, se poate observa o progresie mai severă a afecțiunii, adesea cu efecte permanente.

Diagnosticul se bazează pe anamneza pacientului, tabloul clinic și rezultatele testelor de laborator precum determinarea anticorpilor IgM și IgG specifici. Anticorpilor IgG protejează organismul de noi infecții și pot fi identificați pe o perioadă lungă de timp (câțiva ani) după infecție sau vaccinare.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Tick-Borne Encephalitis Virus IgG este gata de utilizare pentru detectia anticorpilor IgG impotriva TBE Virus, pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). Antigenul este legat de faza solida. Immunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubare cu proba diluata. Dupa spalările efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reacție, se efectuează incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi monoclonali anti-umani IgG conjugate cu peroxidaza din hrean. Conjugatul nelegat este eliminat și se adauga substratul de peroxidaza.

Culoarea albastra care se dezvoltă este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba.

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

Rezultatele sunt exprimate in Unitati Arbitrare (AU/ml).

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

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

Masuri de Precautie Analitice

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

1. **Indeprtati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.

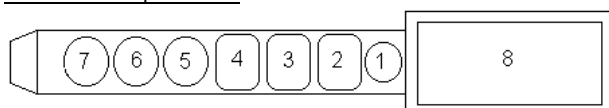
13. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
3. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul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

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari.

DD DISPOZITIVE 6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive.

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu antigen nativ purificat și inactivat al virusului de encefalită transmisă de căpușe

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Soluție tampon proteică

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi anti-umani IgG tapetati cu peroxidaza din hrean.

Pozitia 1: GODEU GOL

Locul unde utilizatorul trebuie să elimine proba nediluată.

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare;

repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculețul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.450 ml

Continut: anticorpi IgG anti-TBE Virus si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 0.900 ml

Continut: anticorpi IgG anti-TBE Virus si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

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

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

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

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

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

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

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

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

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

Eşantionul proaspăt poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C.

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

Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de

dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.

- Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice.
- Distribuiti in godele numarul 1 al fiecarui dispozitiv:

PROBA 50 µl / dispozitiv
CALIBRATORUL 130 µl / dispozitiv
CONTROLUL POZITIV 130 µl / dispozitiv

- Pozitionati dispozitivele in instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati controlul pozitiv pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare al instrumentului. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca acest control pozitiv are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

Daca rezultatul control pozitiv continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in Unitati Arbitrare (AU/ml) calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

Testul probei examinate poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este > 22

NEGATIV: cand rezultatul este < 18

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 18 si 22

Daca rezultatul este incert/echivoc, repetati testul. Daca ramane incert/ echivoc, colectati o noua proba.

11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient. Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare: 4-200.0 AU/ml-IU/ml.

Pentru probele cu un titru >200.0 AU/ml, repetati testul preluand proba cu Negative Control Sample Diluent (PF83607 – care nu este furnizat impreuna cu kitul).

11. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Se cunoaste posibila interferenta a anticorpilor anti-Flavivirus.

12. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 94 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	34	2	36
	-	2	56	58
	Total	36	58	94

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului): 94.4% CI_{95%}: 81.8 - 98.4

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului): 96.6% CI_{95%}: 88.2 - 99.0

Acordul dintre cele doua metode este excellent cu Cohen's Kappa de 0.92.

13. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

14. BIBLIOGRAFIE

- K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ and T. Solomon. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis Journal of General Virology (2009), 90, 1781–1794.
- Anu Ja"askela"inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri, and Olli Vapalahti. Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by a -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2003, p. 4336–4342.
- Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N., Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T and Fooks A.R. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.



NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

CHORUS Erkinio encefalito viruso IgG

Pusiau kiekybiniam erkinio encefalito viruso IgG antikūnų nustatymui

Skirta naudoti tik *in vitro* diagnostikai

1. TIKSLINIS NAUDOJIMAS

Imunofermentinis metodas, skirtas pusiau kiekybiniam IgG klasės antikūnų prieš erkinio encefalito virusą nustatymui žmogaus serume, naudojant vienkartinį prietaisą, taikomą prietaisuose "Chorus" ir "Chorus TRIO".

2. ĮVADAS

Erkinis encefalitas (erkinis encefalitas) yra virusinė infekcinė liga, pažeidžianti centrinę nervų sistemą, kurią sukelia *Flaviviridae* šeimos priklausantis arbovirusas. Virusų šeimininkai yra miško gyvūnai, o virusas perduodamas žmonėms ir gyvūnams įkandus erkei arba, išimtiniais atvejais, vartojant infekuotą termiškai neapdorotą pieną. Iki 70 % infekcijų pasireiškia kliniškai nepastebimais arba lengvais simptomais; likusiais 30 % atvejų, po 3-14 dienų inkubacinio laikotarpio, pasireiškia nespecifiniai į gripą panašūs simptomai. Po kelių dienų remisijos išsivysto antroji ligos fazė. Šiai fazei būdingi sustiprėję galvos skausmai, oftalmoplegija, vėmimas, bloga savijauta, meninginiai simptomai, galvinių nervų paralyžius ir galūnių parėzė. Ūminė erkinio encefalito stadija trunka nuo 1 iki 3 savaičių. Sunkesnė ligos eiga, dažnai su ilgalaikiais blogais padariniais, gali pasireikšti vyresnio amžiaus pacientams.

Diagnozė nustatoma remiantis anamneze, klinikiniu vaizdu ir laboratorinių tyrimų, pavyzdžiui, specifinių IgM ir IgG antikūnų nustatymo, rezultatais. IgG antikūnai apsaugo organizmą nuo naujos infekcijos ir juos galima nustatyti praėjus ilgam laikotarpiui (keleriems metams) po buvusios infekcijos ar vakcinacijos.

3. METODO PRINCIPAS

"Chorus" erkinio encefalito viruso IgG prietaisas yra paruoštas naudoti IgG antikūnams prieš erkinio encefalito virusą aptikti "Chorus/Chorus TRIO" prietaisuose.

Tyrimas pagrįstas ELISA (su fermentais susietos imuno sorbcinės analizės) principu. Antigenas prisijungia prie kietosios fazės. Specifiniai imunoglobulinai prisijungia prie antigeno inkubuojant su praskiestu žmogaus mėginiu.

Po plovimo, kad būtų pašalinti nesureagavę baltymai, inkubuojama su konjugatu, sudarytu iš antižmogaus IgG antikūnų, konjuguotų su krienų peroksidaze. Nesusijungęs konjugatas pašalinamas ir pridedamas peroksidazės substratas. Išsiskirianti mėlyna spalva yra proporcinga mėginyje esančių specifinių antikūnų koncentracijai.

Vienkartiniuose prietaisuose yra visi reagentai, reikalingi tyrimui atlikti, kai jie naudojami "Chorus/Chorus TRIO" prietaisuose. Rezultatai išreiškiami sutartiniais vienetais (AU/ml).

4. ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

TIK *IN VITRO* DIAGNOSTIKAI

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

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

Sveikatos ir saugos informacija

1. Negalima pipetuoti į burną.
2. Dirbdami su mėginiais mėvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite akių apsaugos priemones.
3. Kruopščiai nusiplaukite rankas po to, kai įdėjote prietaisus į "Chorus/Chorus TRIO" instrumentą.
4. Visą informaciją apie rinkinyje esančių reagentų saugą rasite atitinkamame medžiagos saugos duomenų lape (galima gauti paprašius).
5. Neutralizuotos rūgštys ir kitos skystos atliekos turėtų būti nuklenksminamos įpilant pakankamą kiekį natrio hipochlorito, kad galutinė koncentracija būtų ne mažesnė kaip 1 %. Veiksmingam nuklenksminimui užtikrinti gali prireikti 30 minučių veikti 1 % natrio hipochlorito tirpalu.
6. Išsiliejusias potencialiai užkrečiamas medžiagas reikia nedelsiant pašalinti adsorbicine popierine servetėle, o prieš tęsiant darbą užterštą vietą nupurkšti, pavyzdžiui, 1 % natrio hipochloritu. Natrio hipochlorito negalima naudoti rūgščių turinčių medžiagų išsiliejimams, nebent išsiliejimo vieta prieš tai būtų sausai nušluostyta. Medžiagos, naudojamos išsiliejimams valyti, įskaitant pirštines, turėtų būti šalinamos kaip potencialiai biologiškai pavojingos atliekos. Negalima autoklavuoti medžiagų, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito.

Analitinės atsargumo priemonės

Prieš naudodami prietaisus palaikykite kambario temperatūrą (18-30 °C); panaudokite per 60 min.

1. Išmeskite prietaisus, kurių substratas (4 duobutė) yra mėlynos spalvos.
2. Įpilkite mėginį į duobutę ir patikrinkite, ar jis puikiai pasiskirstė ant dugno.
3. Patikrinkite, ar prietaise yra reagentų ir ar prietaisas nepažeistas; nenaudokite prietaisų, kuriuose trūksta reagento ir (arba) reakcijos duobutėje yra pašalinių kūnų.
4. Šie prietaisai skirti naudoti su "Chorus/Chorus TRIO" instrumentu; būtina atidžiai laikytis naudojimo instrukcijų ir susipažinti su instrumento naudojimo vadovu.

Rinkinį galima naudoti tik su atnaujinta programinės įrangos versija. Įsitikinkite, kad prietaise įdiegta programinė įranga atitinka "Diesse" interneto svetainėje

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

paskelbtoje lentelėje nurodytą versiją (Rel.) arba yra vėlesnės versijos.

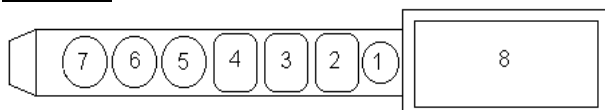
5. Patikrinkite, ar "Chorus/Chorus TRIO" instrumentas nustatytas teisingai (žr. naudojimo instrukciją).
6. Nekeiskite ant prietaiso rankenos esančio brūkšninio kodo, kad prietaisas teisingai nuskaitytų duomenis.
7. Mėginiams laikyti nenaudokite savaime užšalusių šaldiklių.
8. Sugedusius brūkšnius kodus į prietaisą galima įvesti rankiniu būdu (žr. naudojimo instrukciją).
9. Laikydami ir naudodami prietaisus, nelaikykite jų stipriai apšviestų arba veikiamų hipochlorito garų.
10. Klaidos šaltinis gali būti stipriai hemolizuotų, lipeminių, ikterinių mėginių, nevysiškai koaguluoto serumo arba mėginių, užterštų mikrobais, naudojimas.
11. Nenaudokite prietaiso pasibaigus galiojimo laikui.
12. Įsitikinkite, kad prietaisas prijungtas prie plovimo buferio (nuoroda 83606).

5. RINKINIO SUDĖTIS IR REAGENTŲ PARUOŠIMAS

Rinkinio pakanka 36 tyrimams atlikti.

DD ĮRENGINIAI 6 paketai, kurių kiekviename yra 6 įrenginiai.

Aprašymas:



8 pozicija: vieta brūkšninio kodo etiketei klijuoti

7 pozicija: tuščia

6 pozicija: MIKROPLOKŠTŲ ŠULINUKAS

Padengtas išgrynintu ir inaktyvuotu erkinio encefalito viruso gimtuoju antigenu

5 pozicija: nepadengta MIKROPLOKŠTĖS ŠULINUKAS

4 pozicija: TMB SUBSTRATE

Turiny: Tetrametilbenzidinas 0,26 mg/ml ir H₂O₂ 0,01% stabilizuotas 0,05 mol/l citrato buferiniame tirpale (pH 3,8).

3 pozicija: pavyzdinis skiedinys

Turiny: Sudėtis: Proteininis buferinis tirpalas.

2 pozicija: CONJUGATE

Sudėtis: antižmogaus IgG antikūnai, paženklininti krienų peroksidu.

1 pozicija: tuščias šuliny

Į ją operatorius turi įdėti neskiestą mėginį.

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

KALIBRATORIUS KALIBRATORIUS 1 x 0,450 ml

Sudėtis: IgG antikūnai prieš TBE virusą ir konservantas. Skystas, paruoštas naudoti.

KONTROLĖ + TEIGIAMA KONTROLĖ 1 x 0,900 ml

Sudėtis: IgG antikūnai prieš TBE virusą ir konservantas. Skystas, paruoštas naudoti.

REIKALINGOS, BET NEPAITEKTOS MEDŽIAGOS

- SKALBIMO BUFERIS REF 83606
- VALYMO TIRPALAS 2000 REF 83609
- DEZINFEKAVIMO TIRPALAS REF 83604 - 83608
- Choras / choras TRIO Instrumentas
- Distiliuotas arba dejonizuotas vanduo
- Įprasti laboratoriniai stiklo indai: cilindrai, mėgintuvėliai ir kt.
- Mikropipetės tiksliai 50-200 µl tirpalo surinkimui
- Vienkartinės pirštinės
- Natrio hipochlorito tirpalas (5 %)
- Konteineriai potencialiai užkrečiamoms medžiagoms rinkti

6. REAGENTŲ LAIKYMAS IR STABILUMAS

Reagentai turi būti laikomi 2/8 °C temperatūroje. Jei reagentai laikomi netinkamoje temperatūroje, kalibravimas turi būti pakartotas, o bandymas patvirtintas naudojant teigiamą kontrolę (žr. 9 skyrių "Bandymo patvirtinimas").

Galiojimo data yra išspausdinta ant kiekvieno komponento ir rinkinio etiketėje.

Atidarius reagentus, jų stabilumas yra ribotas:

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

7. MĖGINIŲ RINKIMAS IR SAUGOJIMAS

Mėginį sudaro serumas, paimtas įprastu būdu iš venos ir apdorotas laikantis visų atsargumo priemonių, nustatytų pagal gerą laboratorinę praktiką.

Galimos pasekmės, jei būtų naudojami kiti biologiniai skysčiai, nėra žinomos.

Šviežias mėginy gali būti laikomas 4 dienas 2/8 °C temperatūroje arba užšaldytas ilgesniam laikui -20 °C temperatūroje.

Nelaikykite mėginių šaldikliuose su automatinio atšildymo funkcija. Prieš naudojimą atitirpintus mėginius reikia kruopščiai suplakti.

Mėginio kokybei didelę įtaką gali turėti mikrobinis užterštumas, dėl kurio gaunami klaidingi rezultatai.

8. TYRIMO PROCEDŪRA

1. Atidarykite pakuotę (iš tos pusės, kurioje yra slėginė sklendė), išimkite reikiamą prietaisų skaičių, o likusius, išleidę orą, užklijuokite maišelyje.
2. Patikrinkite prietaiso būklę pagal 4 skyriuje "Analizės atsargumo priemonės" pateiktus nurodymus.
3. Į duobutę Nr. 1 iš kiekvieno prietaiso:

PAVYZDYS	50 µl/prietaisui
KALIBRATORIUS	130 µl/prietaisui
TEIGIAMA KONTROLĖ	130 µl/prietaisui

4. Įdėkite prietaisus į Chorus/Chorus TRIO instrumentą. Atlikite kalibravimą (jei reikia) ir bandymą, kaip nurodyta prietaiso naudojimo vadove.

9. BANDYMŲ PATVIRTINIMAS

Naudokite teigiamą kontrolę, kad patikrintumėte gautų rezultatų teisingumą. Ji turėtų būti naudojama taip, kaip nurodyta prietaiso naudojimo vadove. Jei prietaisas signalizuoja, kad teigiamos kontrolės vertė yra už leistino intervalo ribų, kalibravimas turi būti pakartotas. Ankstesni rezultatai bus automatiškai pakoreguoti.

Jei teigiamos kontrolės rezultatas ir toliau neatitinka priimtino intervalo, kreipkitės į mokslinę pagalbą.

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

10. REZULTATŲ AIŠKINIMAS

Prietaisas "Chorus/Chorus TRIO" rezultatą išreiškia sutartiniais vienetais (AU/ml), apskaičiuotais pagal prietaise išsaugotą nuo partijos priklausantį grafiką.

Ištirto mėginio testą galima interpretuoti taip:

teigiamas: kai rezultatas > 22

NEGATYVUS: kai rezultatas yra < 18

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: visoms reikšmėms nuo 18 iki 22

Jei rezultatas abejotinas arba dviprasmiškas, pakartokite tyrimą. Jei rezultatas išlieka abejotinas arba vienareikšmis, paimkite naują mėginį.

11. APRIBOJIMAI

Visas gautas vertes reikia atidžiai interpretuoti, atsižvelgiant į kitus su pacientu susijusius rodiklius.

Iš tiesų, šis tyrimas negali būti naudojamas vien tik klinicinei diagnozei nustatyti, todėl tyrimo rezultatas turėtų būti vertinamas kartu su paciento anamneze ir kitais klinikinės diagnostikos duomenimis.

12. KALIBRAVIMO DIAPAZONAS

Kalibravimo diapazonas 4- 200,0 AU/ml .

Jei mėginių kiekis > 200,0 AU/ml, praskiestą mėginį dar kartą išstirkite neigiamoje kontrolėje / mėginio skiediklyje (PF83607 - su rinkiniu nepateikiamas).

13. KRYŽMINĖS REAKCIJOS

Žinoma, kad galima kryžminė reakcija su antikūnais prieš flavivirusą.

14. METODO PALYGINIMAS

Atliekant eksperimentą 94 mėginiai buvo ištirti su Diesse rinkiniu ir konkuruojančiu rinkiniu.

Duomenys apibendrinti šioje lentelėje:

Diesse		Nuoroda		
		+	-	Iš viso
	+	34	2	36
	-	2	56	58
Iš viso		36	58	94

Procentinis teigiamas sutikimas (~ diagnostinis jautrumas):

94,4 % CI_{95%} : 81,8 - 98,4

Neigiamo sutikimo procentas: (~Diagnostinis specifiškumas):

96,6 % CI_{95%} : 88,2 - 99,0

Abiejų metodų suderinamumas yra puikus - Coheno kappa lygus 0,92.

15. TIKSLUMAS IR PAKARTOJAMUMAS

Pavyzdys	Trukmės tikslumas		Tikslumas tarp ciklų	
	Vidurkis (AU/ml)	CV%	Vidurkis (AU/ml)	CV%
1	43.5	4.9	44.7	3.2
2	22.6	2.5	22.6	2.5
3	13.3	5.0	14.9	5.2

Pavyzdys	Partijų tikslumas		Prietaisų tikslumas	
	Vidurkis (AU/ml)	CV%	Vidurkis (AU/ml)	CV%
1	46.1	4.6	46.3	4.3
2	25.6	8.8	22.2	5.1
3	15.1	4.8	15.6	6.2

16. NUORODOS

1. K. L. Mansfield, N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks¹ ir T. Solomon. Erkinio encefalito virusas - naujos zoonozės apžvalga Journal of General Virology (2009), 90, 1781-1794
2. Anu Ja"ä"skela"inen, Xiuqi Han, Matthias Niedrig, Antti Vaheri ir Olli Vapalahti. Erkinio encefalito diagnostika naudojant -Capture Immunoglobulin M-Enzyme Immunoassay Based on Secreted Recombinant Antigen Produced in Insect Cells. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 2003 m. rugsėjis, p. 4336-4342
3. Mansfield K.L., Horton D.L., Johnson N.,¹ Li Li, Barrett A.D.T., Smith D.J., Galbraith S.E., Solomon T ir Fooks A.R. Flaviviruso sukeltas kryžminis antikūnų reaktyvumas. Journal of General Virology (2011), 92, 2821-2829.

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

	EN	CE marking of conformity Marcatura CE di conformità CE-Konformität Skenneichnung Marcado CE de conformidad Označení shody CE	FR	Marquage de conformité CE Σημάνση συμμορφώσης CE Marcação CE de conformidade Oznakowanie zgodności CE Marcajul de conformitate CE CE ženkinimas
	IT		EL	
	DE		PT	
	ES		PL	
	CS		RO	
			LT	