



CHORUS

RUBELLA IgM

REF 81031 (36 tests)

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
DIESSE Diagnostica Senese
 Via delle Rose 10
 53035 Monteriggioni (Siena) - Italy

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

CE
0123

INDICE / INDEX / ÍNDICE

1. UTILIZZAZIONE / INTENDED USE/ INDICACIONES DE USO / FINALIDADE
2. INTRODUZIONE / INTRODUCTION / RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA / INTRODUÇÃO
3. PRINCIPIO DEL METODO / PRINCIPLE OF THE METHOD / PRINCIPIO DEL MÉTODO / PRINCIPIO DE AÇÃO
4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI / KIT COMPOSITION AND REAGENTS PREPARATION / COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO / REAGENTES DO KIT E PREPARO
5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI / STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS / CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS / CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES
6. PRECAUZIONI / PRECAUTIONS / PRECAUCIONES DE USO / PRECAUÇÕES
7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE / TYPE AND STORAGE OF SAMPLE / TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACION / TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS
8. PROCEDIMENTO / PROCEDURE /PROCEDIMIENTO / PROCEDIMENTO DO TESTE
9. VALIDAZIONE DEL TEST / TEST VALIDATION / VALIDACIÓN DE LA PRUEBA / ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO
10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI / INTERPRETATION OF THE RESULTS / INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS / INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA /LIMITATIONS OF THE PROCEDURE / LIMITACIONES / LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO
12. SPECIFICITA' ANALITICA / ANALYTICAL SPECIFICITY / ESPECIFICIDAD ANALÍTICA / ESPECIFICIDADE ANALÍTICA
13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA / DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY/ SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO / SENSIBILIDADE E ESPECIFIDADE DIAGNÓSTICA
14. PRECISIONE / PRECISION / REPRODUCIBILIDAD / PRECISÃO
15. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DEGLI ANTICORPI IgM ANTI VIRUS DELLA ROSOLIA NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS

2. INTRODUZIONE

Il virus della Rosolia provoca nell'uomo una malattia contagiosa molto comune caratterizzata da esantema diffuso. Il decorso è generalmente breve e privo di complicazioni. Se la malattia è invece contratta durante la gravidanza ci sono conseguenze per il feto in quanto il virus è teratogeno e provoca gravi malformazioni specialmente durante il primo mese di gestazione. Per questo motivo è essenziale conoscere lo stato immunitario della paziente prima di una gravidanza, in quanto si può procedere alla vaccinazione o, se questa è impossibile, al frequente monitoraggio per osservare l'eventuale sieroconversione. Esistono numerosi metodi per effettuare il dosaggio delle immunoglobuline specifiche (1). L'ELISA è uno di questi ed ha il vantaggio della completa automazione. La diagnosi sierologica di Rosolia può essere effettuata dosando le IgM specifiche in quanto questi anticorpi, abbinati ai sintomi clinici, hanno un considerevole significato diagnostico.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sul principio ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

L'antigene, costituito dal Virus della Rosolia purificato ed inattivato, viene legato alla fase solida. Per incubazione con siero umano diluito in un diluente bloccante le IgG, le IgM specifiche si legano all'antigene.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti IgM umane coniugate con perossidasi di rafano.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame

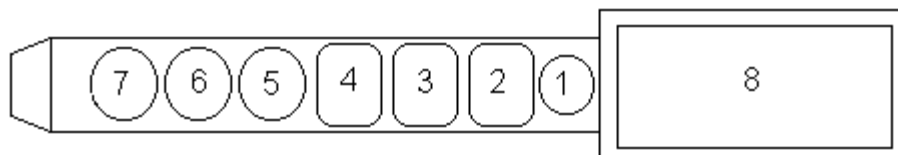
I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna.

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



Descrizione:

Posizione 8: spazio disponibile per etichette con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA SENSIBILIZZATO con Antigene purificato da Rubella 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 proteica contenente siero anti IgG umane, contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02% e un indicatore per rivelare la presenza di siero.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO dove l'utilizzatore deve dispensare il siero indiluito.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con Proclin e Gentamicina, liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

La data di scadenza è stampata sull'etichetta del dispositivo.

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

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

6. PRECAUZIONI

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

Attenzione:

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS.
2. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:
 - a) Il coniugato contiene fenolo
 - b) Il substrato è acido
 Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.
3. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente ad ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti è normalmente sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
4. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti

i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

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

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

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

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

Il test non è applicabile a plasma umano.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Il campione risulterà:

Negativo: quando il risultato è < 0.9

Dubbio: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

Positivo: quando il risultato è > 1.1

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Sieri prelevati prima di 5 giorni dopo l'inizio dei sintomi, potrebbero contenere livelli insufficienti di IgM per dare un risultato positivo nel presente test.

Poiché gli anticorpi IgM materni non attraversano la placenta, la presenza di IgM virus-specifiche nel neonato sono da ritenere il risultato di un'infezione congenita. Data la possibilità di contaminazione del sangue del cordone da parte di IgM materne, è consigliabile confermare un risultato positivo per le IgM nel sangue del cordone, attraverso un secondo prelievo dal neonato.

E' stata riportata recentemente una risposta anticorpale di tipo IgM anti-Rosolia in una piccola percentuale di pazienti affetti da mononucleosi infettiva, alcuni dei quali presentavano una stretta specificità per alcuni ceppi di virus della rosolia. Si ritiene che la stimolazione policlonale da parte dell'EBV delle cellule B-memoria possa essere responsabile in qualche caso di risposte anticorpali eterotipiche della classe IgM. I risultati devono essere sempre interpretati insieme ad altri provenienti dalla valutazione clinica e da altre indagini diagnostiche.

Sieri di pazienti che si trovano in una fase precoce o tardiva della malattia, potrebbero dare un risultato ripetutamente negativo vicino al valore soglia del cut-off; in tal caso si raccomanda di verificare il risultato, dosando un nuovo campione prelevato ad un intervallo di 7-10 giorni dal primo.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

La presenza nel campione di siero di potenziali interferenti come: Fattore Reumatoide, Bilirubina, Trigliceridi e campioni emolitici, non altera il risultato del test. In una campionatura di sieri provenienti da donne in stato di gravidanza non si sono verificate alterazioni nel risultato del test.

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

Nella sperimentazione, sono stati analizzati 431 campioni con il Kit DIESSE e un kit di riferimento commerciale.

I risultati positivi o discordanti sono stati confermati con un terzo test

Di seguito sono schematizzati i risultati della sperimentazione:

Tabella 1.

		Riferimento		Totale
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
	Totale	76	355	431

Il kit ha una specificità del 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) e una sensibilità del 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3)

14. PRECISIONE

Tabella 2. Precisione all'interno della seduta

Campione	INDEX	DS	CV%
Controllo positivo	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabella 3. Precisione tra sedute

Campione	Media Index					Media	DS	CV%
	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(English)

1. INTENDED USE

QUALITATIVE DETERMINATION OF IgM-CLASS ANTIBODIES TO RUBELLA VIRUS IN HUMAN SERUM USING A DISPOSABLE DEVICE APPLIED ON THE CHORUS INSTRUMENTS

2. INTRODUCTION

Rubella virus causes a very common infectious disease in man, accompanied by a typical diffused rash. The course of the illness is generally short and without complications. However, it is harmful for the fetus if contracted during pregnancy, because the virus is teratogenic and may cause very serious malformations especially during the first month of pregnancy. It is therefore essential to determine the patient's immune status before the start of pregnancy, if possible, in order to perform vaccination or, if this is impossible, to monitor the course of the pregnancy to observe whether seroconversion occurs. Several methods are employed for the assay of specific immunoglobulins (1). ELISA is one of these, and has the advantage of being completely automated. The serological diagnosis of Rubella may be performed with the assay of specific IgM because these antibodies, together with the clinical symptoms, are of considerable diagnostic relevance.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the ELISA technique (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

The antigen, composed of purified and inactivated Rubella Virus, is bound to the solid phase. Through incubation with human serum diluted in a diluent blocking the IgG, the specific IgM are bound to the antigen.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of human IgM monoclonal antibodies conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added.

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

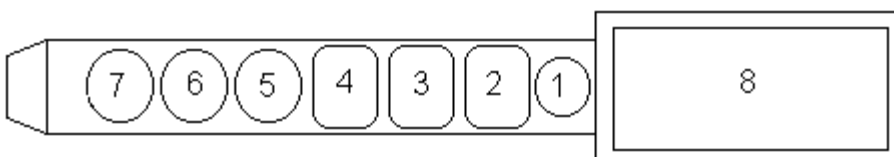
The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments.

4. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

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



Description:

Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL coated with Rubella Virus purified 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: DILUENT FOR THE SAMPLES

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

Position 2: CONJUGATE

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

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

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

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 mL

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

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

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

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

6. PRECAUTIONS

ONLY FOR DIAGNOSTIC USE IN VITRO.

Attention:

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

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instrument.
2. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate contains phenol
 - b) The substrate is acid
 If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.
3. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1.0%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
4. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to

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

Analytical precautions

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

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

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

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

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

The test cannot be applied to plasma.

8. PROCEDURE

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

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

The results can be interpreted as follows:

NEGATIVE: when the result is < 0.9

DOUBTFUL: when the result is between 0.9 and 1.1

POSITIVE: when the ratio is > 1.1

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

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Specimens collected earlier than 5 days after onset of symptoms may not contain sufficient IgM antibody to be positive in the test.

Since maternal IgM antibody does not cross the placenta, virus-specific IgM antibody in the new-born can be assumed to be a result of congenital infection. Because of the possibility of contamination of cord blood with maternal IgM, it is prudent to confirm positive viral IgM antibody results on cord blood samples by testing a follow-up specimen from the infant. Rubella IgM antibody responses recently have been reported in a small proportion of patients with infectious mononucleosis; some of these showed narrow specificity for certain strains of Rubella virus. Polyclonal stimulation of B memory cells by EBV was considered in some cases to be a possible mechanism for heterotypic IgM antibody responses.

The results must always be interpreted together with the clinical picture and data from other diagnostic investigations. Sera from patients in an early or late stage of the disease could give a repeatedly negative result close to the Cut-off value. In such cases, a confirmation of the result is recommended, by testing a new sample drawn from the same patient at 7-10 days interval from the first sample.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The presence in the samples of potentially interfering substances such as Rheumatoid factor, Bilirubin, Triglycerides and haemolytic samples does not influence the result. No influence on the result was verified in the test of sera samples from women during pregnancy.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

431 samples were tested in the experimentation both with the Diesse kit and with another commercial reference kit.

The samples that gave positive results or were in disagreement, were confirmed with another test.

The results are summarized in the following table.

Table 1.

		Reference		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

The kit shows a specificity of 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) and a sensitivity of 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3).

14. PRECISION

Table 2. Within-run precision

Sample	INDEX	SD	CV%
Positive control	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Table 3. Between-run precision

Sample	Mean Index					Mean	SD	CV%
	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell ,: Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheeri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgM ANTI VIRUS DE LA RUBÉOLA EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus de la Rubéola causa una enfermedad infecciosa muy común en los humanos, acompañados por un sarpullido difundido típico. El curso de la enfermedad es generalmente corto y sin complicaciones. Sin embargo, es muy perjudicial para el feto si es contraído durante el embarazo, debido al efecto teratogénico del virus que puede causar malformaciones muy graves especialmente durante el primer mes de embarazo.

Por esta razón es esencial determinar los títulos de anticuerpo antes del embarazo, para realizar la posible vacunación o, si esto es imposible, poder supervisar el curso del embarazo para detectar un proceso de seroconversión. Hay varios métodos para determinar la titulación de anticuerpos anti-Rubéola IgM, entre estos métodos está el ELISA que ofrece la ventaja de ser completamente automatizado.

El diagnóstico serológico de Rubéola puede ser realizado mediante la titulación de anticuerpos anti-Rubéola IgM específicos, conjuntamente con los síntomas clínicos, de considerable significado diagnóstico.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

El antígeno, constituido por Rubella Virus purificado e inactivo, está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido en un diluyente que bloquea la IgG, las IgM específicas se unen al antígeno.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de anticuerpos monoclonales humanos anti IgM conjugadas con peroxidasa de rábano.

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

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

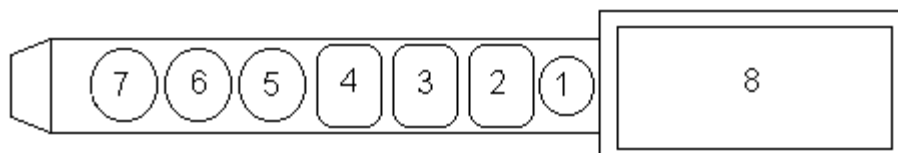
Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos necesarios para realizar la prueba en los instrumentos Chorus.

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno.

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



Descripción:

Posición 8: espacio libre para etiquetas con códigos de barra

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA SENSIBILIZADO por Antígeno purificado de Virus de la Rubéola

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUBSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas que contiene anti-IgM humanas, fenol al 0.05% y Bronidox 0.02% y un marcador para revelar la presencia de suero.

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

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

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

La fecha de caducidad está impresa en la etiqueta del dispositivo.

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

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

6. PRECAUCIONES DE USO

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Aviso:

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

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

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

Si cualquier reactivo entra en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.

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

Precauciones analíticas

Poner todos los dispositivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso e 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 la colocación correcta de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado; no utilizar dispositivos en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario Chorus.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta y no utilizar dispositivos con etiquetas defectuosas..
7. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
8. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
9. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
10. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus verificar que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
11. Pipetear el suero examinado (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
12. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio. El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces y no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes. 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.

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

El test no se puede aplicar a plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre de presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 6, Precauciones Analíticas, puntos 1 y 8.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo; por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según las indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus indica el resultado en INDEX (relación entre el valor de la D.O. de la muestra y el del Cut-off) que puede ser empleado como medida cuantitativa por ser proporcional a la cantidad de IgM específica presente)

La prueba se considera:

No-inmune si el Index es < 0.9

Dudoso: para todos los valores entre 0.9 y 1.1

Inmune: si el Index es > 1.1

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

11. LIMITACIONES

Sueros recogidos antes de 5 días después de comienzos de los síntomas, podrían contener niveles insuficientes de IgM para dar un resultado positivo en esta prueba.

Ya que los anticuerpos IgM de la madre no atraviesan la placenta, la presencia de IgM virus-específicas en el infante se considera el resultado de una infección congénita. Dada la posibilidad de contaminación de la sangre del cordón por parte de las IgM de la madre, se sugiere confirmar un resultado positivo por medio de otra extracción de muestra del infante. Se ha reportado recientemente una respuesta de anticuerpos de tipo IgM anti-Rubéola en un pequeño porcentaje de pacientes afectados por mononucleosis infecciosa, algunos de los cuales presentaban una estrecha especificidad para algunos tipos de virus de la rubéola. Se considera que la estimulación policlonal del EBV de las células B-memoria pueda ser responsable en algún caso de respuestas heterotípicas de anticuerpos de la clase IgM. Los resultados de la prueba se deben utilizar conjuntamente con la información procedente de la evaluación clínica y de otros procedimientos de diagnóstico.

Sueros de pacientes en fase precoz o tardía de la enfermedad, podrían dar un resultado negativo repetidas veces, cerca del valor del Cut-Off. En estos casos se recomienda verificar el resultado, titulando una nueva muestra recogida 7-10 días después de la primera.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La presencia en las muestras de sustancias que potencialmente pudieran interferir como Factor Reumatoide, Bilirubina, Triglicéridos e Muestras hemolíticas no causan interferencias.

En muestras de suero procedentes de mujeres embarazadas no se encontraron alteraciones en el resultado del test.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

Durante la prueba, se analizaron 431 muestras con el kit DIESSE y con un kit de referencia comercial, y los resultados potitivos o discordantes fueron confirmados por una tercera prueba.

Los resultados están resumidos en la tabla siguiente :

Tab. 1

		Referencia		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

El kit tiene una especificidad del 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) y una sensibilidad del 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3).

14. REPRODUCIBILIDAD

Tab. 2 Reproducibilidad intra-ensayo

Muestra	INDEX	Desv. Estándar	CV%
Control positivo	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tab. 3 Reproducibilidad entre series

Muestra	Media Index					Media	Desv. Estándar	CV%
	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Serie 4	Serie 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG), IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830.
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.



INSTRUÇÕES PARA USO

CHORUS RUBELLA IgM

REF 81031

(Português)

1. FINALIDADE

DETECÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS IgM CONTRA O VÍRUS DA RUBÉOLA EM SORO HUMANO, USANDO UM DISPOSITIVO DESCARTAVEL APLICADO AOS EQUIPAMENTOS CHORUS

2. INTRODUÇÃO

O vírus da Rubéola causa uma doença infecciosa muito comum nos homens, caracterizada para um exantema muito estendido. Geralmente o decurso da doença é muito curto e sem complicações.

Ao contrário, no caso a doença seja contraída durante a gravidez, podem ocorrer conseqüências graves para o feto, quanto o vírus é teratogénico e pode gerar graves malformações, especialmente durante o primeiro mês de gravidez.

Por isso é importante conhecer a situação imunitária da paciente antes do início da gravidez, para vacinar, ou no caso seja impossível, para controlar com frequência e observar a eventual soroconversão.

Existem vários métodos para detectar as imunoglobulinas específicas. O método ELISA é um destes, com a vantagem de ser totalmente automatizado. A diagnose sorológica de Rubéola pode ser realizada testando as IgM específicas, em quanto estes anticorpos, juntos com sintomas clínicos, tem um significado diagnostico muito grande.

3. PRINCIPIO DE AÇÃO

O teste baseia-se no princípio ELISA (Teste enzimático ligado à imonosorvência).

O antígeno, composto de vírus da Rubéola purificado e inativado, liga-se à fase sólida. Através da incubação com soro humano diluído em um diluente bloqueador das IgG, as IgM específicas se ligam ao antígeno.

Depois das lavagens para se eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti IgM humanas conjugadas com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-se o substrato para a peroxidase.

A cor azul que aparece é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro que está sendo examinado.

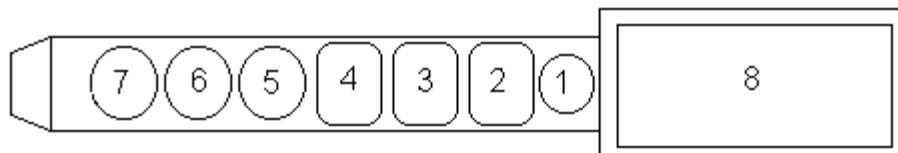
Os dispositivos mono-uso contêm todos os reagentes para se executar o teste quando aplicados ao instrumento Chorus.

4. REAGENTES DO KIT E PREPARO

Os reagentes são suficientes para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 confecções contendo 6 dispositivos cada.

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



Descrição:

Posição 8: Espaço disponível para rotular com código de barras

Posição 7: Vazio

Posição 6: CAVIDADE DE MICROPLACA sensibilizada com Antígeno purificado do Rubéola

Posição 5: CAVIDADE DE MICROPLACA não sensibilizada

Posição 4: TMB SUBSTRATO .

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

Posição 3: DILUENTE DAS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica contendo soro de anti IgG humanas, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0,02% e um indicador para detectar a presença de soro.

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgM humanas marcados com peroxidase, em solução tampão de fosfato com fenol 0.05% e Bronidox 0.02%.

Posição 1: CAVIDADE VAZIA na qual o operador precisa dispensar o soro não diluído

CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Conteúdo: soro humano diluído contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada.**

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 mL

Conteúdo: soro humano diluído contendo concentrações conhecidas de anticorpos, com Proclin e Gentamicin, **líquido, pronto para ser usada**

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

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

5. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8°C. Em caso de temperatura de armazenamento errada, é necessário refazer a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do soro de controle (ver item 9: validação do teste).

A data de vencimento é impressa em cada componente e no rótulo caixa.

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

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

6. PRECAUÇÕES**SOMENTE PARA USO DIAGNOSTICO IN VITRO.****Atenção:**

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

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

Precauções de Biossegurança

1. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear as amostras e durante o teste. Lavar as mãos depois de inserir o dispositivo no equipamento CHORUS.
2. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado contém fenol
 - b) O substrato é ácido
 Em caso de contato desses reagentes com os olhos e pele, lavar abundantemente com água.

3. Ácidos neutralizados e outros descartes líquidos precisam ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para atingir uma concentração final de 1%. Deixando agir o hipoclorito por 30 minutos geralmente é suficiente para uma desinfecção válida.
4. Derramamentos de materiais potencialmente infecciosos precisam ser removidos imediatamente com mata-borrão e a área infectada deve ser limpa, por exemplo, com hipoclorito de sódio 1%, antes de continuar o trabalho. Caso esteja presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para limpeza, incluindo luvas, devem ser descartados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

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

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

7. TIPO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

A amostra é soro, obtido de sangue coletado das veias e manuseado segundo as precauções do laboratório. O soro fresco pode ser conservado a 2/8°C por 4 dias; para períodos de tempo maiores conservá-lo a -20°C. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras. A amostra pode ser descongelada no máximo 3 vezes. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes do teste. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

Não usar amostras fortemente lipêmicas, ictericas, hemolizadas ou inquinadas.

Amostras de plasma não podem ser usadas.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

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

9. ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO

Usar o Soro de Controle para verificar a exatidão do resultado obtido, testando como indicado no Manual de Uso do equipamento. No caso o equipamento apontar o Soro de Controle fora do range de aceitação, precisa calibrar o equipamento uma outra vez. Os resultados antecedentes serão corrigidos automaticamente.

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O equipamento Chorus fornece resultados em INDEX (relação entre o valor de D.O. da amostra em teste e aquilo do Cut-Off), que pode ser usado como medida quantitativa, sendo proporcional à concentração das IgM específicas.

A amostra será:

NEGATIVO quando o índice ≤ 0.9

DUVIDOSO: índice entre 0.9 e 1.1

POSITIVO quando o índice ≥ 1.1

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

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Amostras coletadas antes de 5 dias depois o aparecer dos sintomas, poderiam conter níveis de IgM insuficientes para resultar positivas ao teste.

Dado que os anticorpos IgM não atravessam a placenta, a presença das IgM no sangue do recém nascido devem ser consideradas como resultado de uma infecção congênita. Posto que existe a possibilidade de contaminação do sangue do cordão umbilical com as IgM da mãe, se aconselha confirmar um resultado positivo de IgM no sangue do cordão, por meio de uma segunda coleta de sangue do recém nascido.

Recentemente foi referida uma resposta de anticorpos de tipo IgM anti-Rubéola numa pequena percentagem de pacientes com mononucleose infecciosa, algum dos quais apresentavam uma especificidade por algumas cepas do vírus da Rubéola. Considera-se que o estímulo policlonal do EBV para as células B-memória podem ser responsáveis, em qualquer caso, de respostas de anticorpos IgM heterotípicos.

Os resultados precisam ser interpretados juntos com outros obtidos pela avaliação clínica e por outras investigações diagnósticas.

Soros de pacientes que se encontram numa fase precoce ou avançada da doença podem dar um resultado repetidamente negativo próximo ao valor limite do Cut Off. Nesses casos, recomenda-se verificar o resultado, dosando uma amostra nova extraída depois de um intervalo de 7 a 10 dias em relação à primeira.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

A presença nas amostras de substâncias interferentes, como: Fator Reumatóide, Bilirrubina Triglicérides e amostras hemolíticas não influenciam o resultado.

Numa amostragem de soros provenientes de senhoras grávidas não se verificaram alterações no resultado do ensaio.

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Na experimentação, foram analisadas 431 amostras com o Kit Diesse e um kit de referência comercial e os resultados positivos ou incongruentes foram confirmados por um terceiro ensaio.

Os resultados são reportados na tabela seguinte:

Tabela 1

		Referência		Total
		+	-	
Diesse	+	74	4	78
	-	2	351	353
Total		76	355	431

O produto mostra 98.9 % (CI_{95%}: 97.1 – 99.6) de especificidade e 97.4 % (CI_{95%}: 90.9 – 99.3) de sensibilidade.

14. PRECISÃO

Tabela 2. Precisão no teste

Amostra	INDEX	Desvio Padrão	CV%
Soro positivo de controlo	1.7	0.16	9
RVM 1	0.5	0.08	15
RVM 2	0.9	0.12	13
RVM 3	2.2	0.14	6

Tabela 3. Precisão entre testes

Amostra	Média Index					Média	D.P.	CV%
	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Teste 4	Teste 5			
RVM 3	1.6	1.6	1.5	1.8	1.5	1.6	0.12	8
RVM 2	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.05	6
Serum 32	0.9	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	0.09	10
Serum 2208	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	1.0	0.13	13
Pos. con.	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.00	-

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S. Chantler and C.J. Evans: Selection and performance of monoclonal and polyclonal antibodies in an IgM antibody capture enzyme immunoassay for rubella. J. Immunol. Meth. 87: 109 (1986).
3. R.S. Tedder and J.L. Yao: The production of monoclonal antibodies to rubella haemagglutinin and their use in antibody-capture assays for rubella-specific IgM. J. Hyg. Camb. 88: 335 (1982).
4. B. Forghani, C. Myoraku, N. Schmidt: Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and Rubella immunoglobulin M. J. Clin. Microbiol. 18, 652 (1983).
5. T.Zhang , C.A. Mauracher , L.A. Mitchell , : Detedtion of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin G (IgG) , IgM , and IgA Antibodies by Immunoblot Assays. J.Clin.Microbiol. Apr.1992.p.824-830.
6. P.Partanen, H. Seppanen , Jukka Suni , A. Vaheri : Selective Reactivity of antibodies to Human Immunoglobulins G , M and A with Rubella Virus Proteins. J.clin.microbial.,May 1985 , p.800-802.

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

CE
0123

Diesse Diagnostica Senese
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena) – Italy
Tel. 0577-587111