

CHORUS

SARS-CoV-2 IgM


DIESSE
REF 81401

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

	Capitolo Section Capítulo Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	13– 14





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS SARS-CoV-2 IgM

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-SARS-CoV-2 virus

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-SARS-CoV-2 virus nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

I coronavirus sono virus a singolo filamento positivo di RNA appartenenti alla famiglia dei Coronaviridae, che sono divisi in quattro generi: Alpha, Beta, Delta e Gammacoronavirus. I CoV si trovano comunemente in molte specie di animali. Occasionalmente, i CoV animali possono acquisire mutazioni genetiche mediante errori durante la replicazione del genoma, che può espandere ulteriormente il loro tropismo all'uomo. Un totale di sei tipi di CoV umani sono stati identificati come responsabili di disturbi respiratori umani, che includono due CoV alfa e quattro CoV beta (i due più recenti sono SARS-CoV e MERS-CoV). In genere, questi CoV causano infezione asintomatica o gravi malattie respiratorie acute, tra cui febbre, tosse e respiro corto. Tuttavia, sono stati segnalati anche altri sintomi come gastroenterite e malattie neurologiche di diversa gravità. Da dicembre 2019, l'Organizzazione mondiale della Sanità ha segnalato il settimo betacoronavirus umano (2019-nCoV) che ha causato un'epidemia di polmonite. Questo nuovo virus è collegato a un focolaio di malattia respiratoria febbrile nella città di Wuhan, provincia di Hubei, Cina. Alcuni pazienti con 2019-nCoV hanno sviluppato polmonite grave, edema polmonare, ARDS o insufficienza multipla di organi e sono deceduti. Al momento, le informazioni relative all'epidemiologia e alle caratteristiche cliniche della polmonite causate da 2019-nCoV sono scarse. Il monitoraggio del titolo di anticorpi può servire da indicazione dello stato dell'infezione: durante i primi giorni compaiono IgA e IgM; man mano che la malattia progredisce, le IgG diventano predominanti.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus SARS-CoV-2 IgM è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-SARS-CoV-2 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 siero umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-IgM umane coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il

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

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati 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 leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

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

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

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.

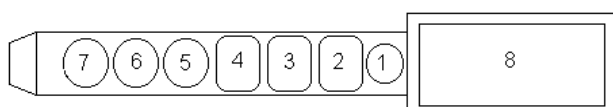
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/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 SARS-CoV-2 nativo inattivato

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 in tampone fosfato con Sodio Azide 0.09% e colorante (metilarancio).

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.175 ml

Contenuto: Soluzione proteica contenente anticorpi specifici capaci di legare l'antigene presente sulla micropiastrea e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenuto: Soluzione proteica contenente anticorpi specifici capaci di legare l'antigene presente sulla micropiastrea e conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHiesto, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

I reagenti hanno una stabilità dopo apertura e/o preparazione fino alla data di scadenza, se conservati correttamente a 2-8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

Evitare ripetuti scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore potrebbe fornire risultati erranei.

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

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

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. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 4 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 1 Positivo) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide - 110 IU/mL
Bilirubina - 18 mg/dL
Trigliceridi - 150 mg/dL
Emoglobina - 15 mg/mL

La presenza nel siero in esame delle sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

13. CROSS-REATTIVI

80 campioni, positivi a Citomegalovirus (4), Mycoplasma pneumoniae (5), Influenza B (1), Influenza A (5), RSV (1), Adenovirus (3), ANA (18), Fattore reumatoide (3), Rubella (3), Chlamydia pneumoniae (5), Parainfluenza (5), Bordetella pertussis (5) e Legionella pneumoniae (2), Coronavirus umano HKU1 (5), Coronavirus umano OC43 (5), Coronavirus umano NL63 (5) e Coronavirus umano 229E (5) sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative con l'eccezione di ANA (4).

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 458 campioni con il kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	122	2	124
	-	8	326	334
	Totale	130	328	458

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

93.8% CI_{95%}: 88.3-96.8.

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

99.4% CI_{95%}: 97.8-99.8.

L'analisi dei risultati su 228 campioni con data nota di prelievo pre-pandemia (2017 e gennaio 2019) ha mostrato una specificità di test ELISA di 100%.

L'analisi dei risultati di 76 campioni con data nota di insorgenza dei sintomi ha dato i seguenti risultati:

Giorni di insorgenza dei sintomi	Sensibilità
≤ 10	81.3%
> 10	93.2%
> 12	92.9%

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.2	0.0	0.2	25.0*
2	1.0	10.0	0.9	13.3
3	2.5	3.2	2.5	14.4

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.2	25.0*	0.3	26.7*
2	1.1	9.1	1.1	10.0
3	3.0	10.0	3.3	9.1

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

16. BIBLIOGRAFIA

1. Xintian et al. "Evolution of the novel coronavirus from ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein

for risk of human transmission" Science China Life sciences; January 2020

2. Chen et al "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". The Lancet, Vol 395 (507-513) February 15, 2020
3. Huang et al "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". The Lancet, Vol 395 (497-506) February 15, 2020
4. Yuxian et al. "Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus" Journal of clinical microbiology-vol 43 n8 (p.3718-37296); august 2005
5. Woo at al. "Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia" Journal of clinical microbiology - vol 42 n5 (2306-2309); May 2004



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS SARS-CoV-2 IgM

**For the qualitative determination of IgM
antibodies anti-SARS-CoV-2 virus**

For In Vitro Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgM class antibodies to SARS-CoV-2 virus in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Coronaviruses are single positive-stranded RNA viruses belonging to *Coronaviridae* family, which are divided into four genera: *Alpha*-, *Beta*-, *Delta*- and *Gammacoronavirus*.

CoVs are commonly found in many species of animals. Occasionally, the animal CoVs can acquire genetic mutations by errors during genome replication or recombination mechanism, which can further expand their tropism to humans. A total of six human CoV types were identified to be responsible for causing human respiratory ailments, which include two alpha CoVs and four beta CoVs (the most recent two are SARS-CoV and MERS-CoV). Typically, these CoVs cause asymptomatic infection or severe acute respiratory illness, including fever, cough, and shortness of breath. However, other symptoms such as gastroenteritis and neurological diseases of varying severity have also been reported. Since December 2019, the seventh novel human betacoronavirus (2019-nCoV) causing pneumonia outbreak was reported by the World Health Organization. This novel virus is linked with an outbreak of febrile respiratory illness in the city of Wuhan, Hubei Province, China. Some patients with 2019-nCoV have developed severe pneumonia, pulmonary oedema, ARDS, or multiple organ failure and have died. At present, information regarding the epidemiology and clinical features of pneumonia caused by 2019-nCoV is scarce. The monitoring of antibodies' titer can serve as an indication of the status of infection: during the first days, IgA and IgM appear; as the disease progresses, IgG becomes predominant.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus SARS-CoV-2 IgM device is ready to use for the detection of IgM antibodies against SARS-CoV-2 virus, using Chorus/Chorus TRIO instruments.

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

After washing to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-human IgM monoclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase. The unbound conjugate is eliminated, and the

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

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

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response by 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 reagents and samples.

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 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 (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

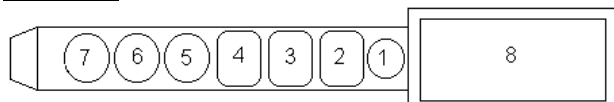
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes 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 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 solution in phosphate buffer with Sodium Azide 0.09% and methyl orange as dye.

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 ml

Contents: Proteic solution containing specific antibodies capable of binding the antigen present on the microplate and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 ml

Contents: Proteic solution containing specific antibodies capable of binding the antigen present on the microplate and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

The reagents have stability after opening and/or preparation until the expiration date, if stored correctly at 2-8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

Avoid repeated thawing-freezing cycles.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

Heat-inactivation can rise to erroneous results.

The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

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

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

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 1.1
NEGATIVE: when the result is < 0.9
DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.9 and 1.1

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

11. LIMITATIONS

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

The test, indeed, 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. ANALYTICAL SPECIFICITY

4 samples (2 Negative, 1 Cut-Off and 1 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid Factor - 110 IU/mL
Bilirubin - 18 mg/dL
Triglycerides - 150 mg/dL
Hemoglobin - 15 mg/mL

The presence in the serum sample of the interfering substances described above does not affect the test result.

13. CROSS-REACTIONS

80 samples, positive to Cytomegalovirus (4), Mycoplasma pneumoniae (5), Flu B (1), Flu A (5), RSV (1), Adenovirus (3), ANA (18), Rheumatoid Factor (3), Rubella Virus (3), Chlamydia pneumoniae (5), Parainfluenza Virus (5), Bordetella pertussis (5), Legionella pneumoniae (2), Human Coronavirus HKU1 (5), Human Coronavirus OC43 (5), Human Coronavirus NL63 (5) and Human Coronavirus 229E (5) were tested.

No significant cross-reactions were found except for ANA (4).

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 458 samples have been tested with Diesse kit and with another commercial kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	122	2	124
	-	8	326	334
	Total	130	328	458

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

93.8% CI_{95%}: 88.3-96.8.

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

99.4% CI_{95%}: 97.8-99.8.

The analysis of the results of 228 samples with known pre-pandemic sampling date (2017 and January 2019), showed that the specificity of the ELISA test is 100%.

The analysis of the results of 76 samples with known date of symptoms onset showed the following results:

Days from symptoms onset	Sensitivity
≤ 10	81.3%
> 10	93.2%
> 12	92.9%

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean (Index)	CV%	Mean (Index)	CV%
1	0.2	0.0	0.2	25.0*
2	1.0	10.0	0.9	13.3
3	2.5	3.2	2.5	14.4

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (Index)	CV%	Mean (Index)	CV%
1	0.2	25.0*	0.3	26.7*
2	1.1	9.1	1.1	10.0
3	3.0	10.0	3.3	9.1

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

16. REFERENCES

- Xintian et al. "Evolution of the novel coronavirus from ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission" Science China Life sciences; January 2020
- Chen et al "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". The Lancet, Vol 395 (507-513) February 15, 2020
- Huang et al "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". The Lancet, Vol 395 (497-506) February 15, 2020
- Yuxian et al. "Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus" Journal of clinical microbiology-vol 43 n8 (p.3718-37296); august 2005

5. Woo et al. "Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia" Journal of clinical microbiology - vol 42 n5 (2306-2309); May 2004



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS SARS-CoV-2 IgM

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2 en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

Los coronavirus son virus de ARN monocatenario positivo pertenecientes a la familia Coronaviridae que se dividen en cuatro géneros: alfa, beta, delta y gammacoronavirus. Los CoV están presentes habitualmente en muchas especies de animales. Ocasionalmente, los CoV animales pueden adquirir mutaciones genéticas por errores durante la replicación del genoma, lo que puede expandir aún más su tropismo al ser humano. Se han identificado un total de seis tipos de CoV humanos como responsables de trastornos respiratorios humanos, incluyendo dos CoV alfa y cuatro CoV beta (los dos más recientes son el SARS-CoV y el MERS-CoV). Típicamente, estos CoV causan una infección asintomática o graves enfermedades respiratorias agudas, incluyendo fiebre, tos y dificultad para respirar. Sin embargo, también se ha informado de otros síntomas como la gastroenteritis y enfermedades neurológicas de diferente gravedad. En diciembre de 2019, la Organización Mundial de la Salud informó sobre el séptimo betacoronavirus humano (2019-nCoV) causante de una epidemia de neumonía. Este nuevo virus está vinculado a un brote de enfermedad respiratoria febril en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China. Algunos pacientes con 2019-nCoV desarrollaron neumonía severa, edema pulmonar, SDRA o fallo multiorgánico y fallecieron. En la actualidad, hay poca información sobre la epidemiología y las características clínicas de la neumonía causada por el 2019-nCoV. La monitorización de los títulos de los anticuerpos puede servir como indicación del estado de la infección: durante los primeros días aparecen IgA e IgM; a medida que la enfermedad progresa, predominan las IgG.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus SARS-CoV-2 IgM está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno. Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan

reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto por anticuerpos monoclonales anti-IgM humanos conjugados con peroxidasa de rábano.

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

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados 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 reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

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

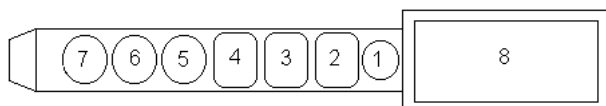
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/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 inactivado.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas en tampón fosfato con azida sódica 0.09 % con adición de metilnaranja como colorante.

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde se dispensa la muestra.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Contenido: Solución proteica con anticuerpos específicos capaces de unir el antígeno presente en la microplaca, y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.425 ml

Contenido: Solución proteica con anticuerpos específicos capaces de unir el antígeno presente en la microplaca, y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

Los reactivos son estables tras su apertura y/o preparación hasta su fecha de vencimiento, si correctamente almacenados a 2-8°C.

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

Evite la descongelación repetida.

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

La **inactivación por calor** puede dar resultados erróneos.

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de 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/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 1.1

NEGATIVO cuando el resultado es < 0.9

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 0.9 y 1.1

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. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

4 muestras (2 Negativas, 1 de Cut-Off y 1 Positiva) fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide - 110 IU/mL

Bilirrubina - 18 mg/dL

Triglicéridos - 150 mg/dL

Hemoglobina - 15 mg/mL

La presencia en el suero de las sustancias interferentes antes mencionadas no afecta el resultado del test.

13. REACCIONES CRUZADAS

80 muestras, positivas en Citomegalovirus (4), Mycoplasma pneumoniae (5), Gripe B (1), Gripe A (5), VRS (1), Adenovirus (3), ANA (18), Factor reumatoide (3), Rubella Virus (3), Chlamydia pneumoniae (5), Virus Parainfluenza (5), Bordetella pertussis (5), Legionella pneumoniae (2), Coronavirus humano HKU1 (5), Coronavirus humano OC43 (5), Coronavirus humano NL63 (5) y Coronavirus humano 229E (5) fueron testadas.

No se observaron reacciones cruzadas significativas, excepto ANA (4).

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 458 muestras con el kit Diesse y con un otro kit del oficio.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	122	2	124
	-	8	326	334
	Total	130	328	458

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de diagnóstico):

93.8 % CI95 %: 88.3-96.8.

Percent Negative Agreement (~Especificidad de diagnóstico):

99.4% CI95%: 97.8-99.8.

El análisis de los resultados de 228 muestras con fecha conocida de recogida pre pandemia (2017 y enero de 2019), mostró que la especificidad de la prueba ELISA es del 100%.

El análisis de los resultados de 76 muestras con fechas conocidas de aparición de síntomas dio los siguientes resultados :

Días desde la aparición de síntomas	Sensibilidad
<10	81.3%
>10	93.2%
>12	92.9%

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.2	0.0	0.2	25.0*
2	1.0	10.0	0.9	13.3
3	2.5	3.2	2.5	14.4

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	0.2	25.0*	0.3	26.7*
2	1.1	9.1	1.1	10.0
3	3.0	10.0	3.3	9.1

*Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los cambios (incluso a los más pequeños) cuando el valor promedio está cerca de cero.

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Xintian et al. "Evolution of the novel coronavirus from ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission" Science China Life sciences; January 2020
2. Chen et al "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". The Lancet, Vol 395 (507-513) February 15, 2020
3. Huang et al "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". The Lancet, Vol 395 (497-506) February 15, 2020
4. Yuxian et al. "Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus" Journal of clinical microbiology-vol 43 n8 (p.3718-37296); august 2005
5. Woo at al. "Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia" Journal of clinical microbiology - vol 42 n5 (2306-2309); May 2004



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





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS SARS-CoV-2 IgM

Para a determinação qualitativa dos anticorpos da classe IgM anti-SARS-CoV-2 vírus

Apenas para uso diagnóstico in vitro

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa dos anticorpos da classe IgM anti-SARS-CoV-2 vírus em soro humano com dispositivo de utilização única aplicado aos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

Os coronavírus são vírus de cadeia única de RNA positivo pertencentes à família Coronaviridae, que se dividem em quatro tipos: Coronavírus Alfa, Beta, Delta e Gama. Os CoV são normalmente encontrados em muitas espécies de animais. Ocasionalmente, os CoV em animais podem adquirir mutações genéticas através de erros durante a replicação do genoma, o que pode expandir ainda mais o seu tropismo para os humanos. Um total de seis tipos de CoV humanos foram identificados como responsáveis por doenças respiratórias humanas, incluindo dois CoV alfa e quatro CoV beta (os dois mais recentes são SRA-CoV e MERS-CoV). Tipicamente, estes CoVs causam infecções assintomáticas ou doenças respiratórias agudas graves, incluindo febre, tosse e falta de ar. No entanto, foram também relatados outros sintomas, tais como gastroenterite e doenças neurológicas de diferente gravidade. Desde dezembro de 2019, a Organização Mundial da Saúde reportou o sétimo beta-coronavírus humano (2019-nCoV), que causou uma epidemia de pneumonia. Este novo vírus está ligado a um surto de doença respiratória com quadro febril na cidade de Wuhan, província de Hubei, China. Alguns doentes com 2019-nCoV desenvolveram pneumonia grave, edema pulmonar, SDRA ou falência de múltiplos órgãos e acabaram por falecer. Atualmente, há pouca informação sobre a epidemiologia e características clínicas da pneumonia causada por 2019-nCoV. A monitorização do título de anticorpos pode servir como indicação do estado de infecção: durante os primeiros dias aparecem IgA e IgM; à medida que a doença progride, a IgG torna-se predominante.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus SARS-CoV-2 IgM está pronto a usar para determinar os anticorpos IgM anti-SARS-CoV-2 vírus, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antígeno liga-se à fase sólida. As imunoglobulinas específicas são ligadas ao antígeno após a incubação com soro humano diluído. Após lavagens para eliminar as proteínas que não tenham reagido, realiza-se a incubação com o conjugado composto por anticorpos

monoclonais anti-IgM humanos conjugados com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase. A cor azul que se forma é proporcional à concentração de anticorpos específicos presentes no soro analisado.

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

Os resultados são expressos em Índice (OD campione/OD cut-off).

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contém materiais de origem humana testados e negativos ao HBsAg e aos anticorpos anti-VIH 1, anti-VIH 2 e anti-VHC. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infetado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infetados e, portanto, eliminados de acordo com as normas de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
 2. Usar luvas descartáveis e proteção nos olhos durante a manipulação das amostras.
 3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
 4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a ficha de segurança (disponível a pedido).
 5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Exposição a hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
 6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infetado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se houver algum ácido presente, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes da referida área estar seca.
- Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infetados.
- Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes de utilizar, por à temperatura ambiente (18-30°C) os dispositivos que vão ser usados e utilizar dentro de 60 minutos.

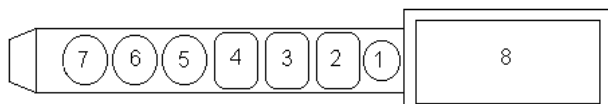
1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
O uso do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou é superior à Release (Rel.) mostrada na tabela publicada no site da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus/Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras imperfeitos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipêmicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
12. **Verificar se o instrumento tem ligação estabelecida com a Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens com 6 dispositivos cada uma

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com o antígeno SARS-CoV-2 nativo inativado

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 proteica em tampão fosfatado com Azida de Sódio a 0.09% e metil-orange como corante.

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida.

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém sílica-gel, expulsar o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 ml

Conteúdo: Solução proteica que contém anticorpos específicos capazes de ligar o antígeno presente na microplaca e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0.425 ml

Conteúdo: Solução proteica que contém anticorpos específicos capazes de ligar o antígeno presente na microplaca e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO:

- 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
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infectados

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo exterior da embalagem.

Após a abertura e/ou preparação os reagentes têm estabilidade até à data de validade se conservados corretamente a 2-8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

Evitar descongelações repetidas.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A inativação por calor poderá levar a resultados errados.

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

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo 50 µl de soro não diluído a analisar. A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual do Utilizador do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro controlo positivo, para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o soro de controlo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em Índice (OD amostra/OD cut-off).

O teste no soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for >1.1

NEGATIVO: quando o resultado for <0.9

DÚBIO/EQUÍVOCO: quando o resultado estiver entre 0.9 e 1.1

Se o resultado for dúbio/equívoco, repetir o teste. Se o resultado continuar dúbio/equívoco, repetir a colheita.

11. LIMITES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescindir de outros indicadores relativos ao mesmo doente.

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

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 4 amostras (2 Negativas, 1 a Cut-Off e 1 Positiva) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide - 110 IU/ml

Bilirrubina - 18 mg/dl

Triglicéridos - 150 mg/dl

Hemoglobina - 15 mg/ml

A presença das substâncias interferentes acima referidas no soro examinado não altera o resultado do teste.

13. REATIVIDADE CRUZADA

Foram testadas 80 amostras, positivas para Cytomegalovirus (4), Mycoplasma pneumoniae (5), Influenza B (1), Influenza A (5), RSV (1), Adenovirus (3), ANA (18), Fator Reumatoide (3), Rubéola (3), Chlamydia pneumoniae (5), Parainfluenza (5), Bordetella pertussis (5), Legionella pneumoniae (2), Coronavírus Humano HKU1 (5), Coronavírus Humano OC43 (5), Coronavírus Humano NL63 (5) e Coronavírus Humano 229E (5).

Não foram detetadas reações cruzadas significativas com exceção ANA (4).

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 458 amostras com o kit Diesse e com outro kit do comércio.

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

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	122	2	124
	-	8	326	334
	Total	130	328	458

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade de diagnóstico):

93.8% CI95%: 88.3-96.8.

Percent Negative Agreement: (~Especificidade de diagnóstico):

99.4% CI95%: 97.8-99.8.

A análise dos resultados em 228 amostras com data de colheita pré-pandemia conhecida (2017 e janeiro de 2019) tem mostrado uma especificidade dos testes ELISA de 100%.

A análise dos resultados de 76 amostras com data conhecida do início dos sintomas deu os seguintes resultados:

Dias de início dos sintomas	Sensibilidade
<10	81.3%
> 10	93.2%
> 12	92.9%

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (Índice)	CV%	Média (Índice)	CV%
1	0.2	0.0	0.2	25.0*
2	1.0	10.0	0.9	13.3
3	2.5	3.2	2.5	14.4

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (Índice)	CV%	Média (Índice)	CV%
1	0.2	25.0*	0.3	26.7*
2	1.1	9.1	1.1	10.0
3	3.0	10.0	3.3	9.1

*Artefato resultante do conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível a variações (mesmo muito pequenas) quando o valor médio está próximo de zero.

16. BIBLIOGRAFIA

1. Xintian et al. "Evolution of the novel coronavirus from ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission" Science China Life sciences; January 2020
2. Chen et al "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". The Lancet, Vol 395 (507-513) 15 de fevereiro 2020
3. Huang et al "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". The Lancet, Vol 395 (497-506) 15 de fevereiro 2020
4. Yuxian et al. "Identification of immunodominant epitopes on the membrane protein of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus" Journal of clinical microbiology-vol 43 n8 (p.3718-37296); agosto 2005
5. Woo at al. "Detection of specific antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS Coronavirus Pneumonia" Journal of clinical microbiology - vol 42 n5 (2306-2309); maio 2004



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



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