



CHORUS

TREPONEMA IgM

REF 81051

REF 81051/12

Prodotto da/Manufactured by/Fabricado por:
 DIESSE Diagnostica Senese
 Strada dei Laghi 39
 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



INDICE / INDEX/ ÍNDICE

1. UTILIZZAZIONE / INTENDED USE/ INDICACIONES DE USO / FINALIDADE
2. INTRODUZIONE / SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST / RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST / INTRODUÇÃO
3. PRINCIPIO DEL METODO / PRINCIPLE OF THE TEST / PRINCIPIO DEL MÉTODO / PRINCIPIO DE AÇÃO
4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI / 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 ESTABILDADE
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 / TEST PROCEDURE /PROCEDIMIENTO / PROCEDIMENTO DO TESTE
9. VALIDAZIONE DEL TEST / TEST VALIDATION / VALIDACIÓN DEL TEST / ESPECIFICAÇÕES DE VALIDAÇÃO
10. INTERPRETAZIONE DEL TEST / INTERPRETATION OF 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. SPECIFICITA' E SENSIBILITA' DIAGNOSTICA / DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY/ SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO / SENSIBILIDADE E ESPECIFIDADE CLÍNICA
14. PRECISIONE / PRECISION / REPRODUCIBILIDAD / PRECISÃO
15. BIBLIOGRAFIA / REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS TREPONEMA IgM

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

DETERMINAZIONE QUALITATIVA DEGLI ANTICORPI IgM ANTI TREPONEMA PALLIDUM NEL SIERO UMANO CON DISPOSITIVO MONOUSO APPLICATO AGLI STRUMENTI CHORUS

2. INTRODUZIONE

La diagnosi sierologica della Sifilide si effettua stabilendo se ci sono nel siero del paziente anticorpi, a titolo significativo, specifici per il *Treponema pallidum*. Il metodo di riferimento è l'FTA-ABS che consente di rivelare sia le IgG che le IgM. Poiché l'esecuzione è laboriosa e l'interpretazione del test non è agevole, si sono trovati metodi alternativi in grado di semplificare la procedura. L'ELISA fornisce risultati riproducibili e specifici in completa automazione e per questo motivo è proposta da molti utilizzatori.

Molto importante risulta il dosaggio specifico delle IgM divise dalle IgG in quanto aiuta nella diagnosi di Sifilide congenita.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test si basa sulla cattura delle IgM umane e successiva rivelazione di quelle specifiche sfruttando la loro capacità di legare l'antigene.

La cattura si effettua con anticorpi monoclonali legati alla fase solida (pozzetto di microtiter posizionato sul dispositivo). L'antigene è costituito da una miscela di proteine ricombinanti del *Treponema pallidum* marcate con perossidasi.

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 (REF 81051).

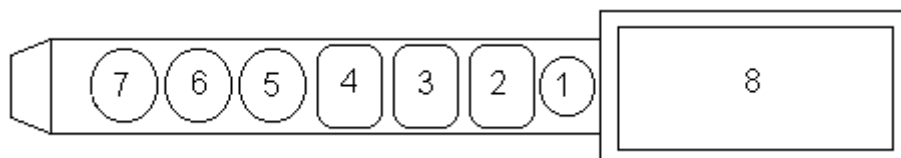
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 81051/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81051).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 81051/12).

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 etichetta con codice a barre

Posizione 7: vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA sensibilizzato con anticorpi monoclonali anti-IgM umane

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA non sensibilizzato

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica, contenente fenolo 0.05%, Bronidox 0.02% e un indicatore per rivelare la presenza di siero

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: miscela di proteine ricombinanti del Treponema pallidum marcate con HRP, 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
- 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 dall'FDA sia per la ricerca di HbsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni 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 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.
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 dei reagenti nel dispositivo e la 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.
7. Codici 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 e l'uso.
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 DEL TEST

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 < 0.8 .

Dubbio/Equivoco: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2

Positivo: quando il risultato è > 1.2 .

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

11. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I risultati di questo test devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio.

Come nel caso della risposta in IgM in altre malattie infettive, una piccola percentuale di pazienti sifilitici possono presentare bassi livelli di IgM anti-T. pallidum, anche dopo il normale periodo massimo di 1-2 anni.

In casi sospetti di sifilide molto precoce, nei quali il test potrebbe risultare negativo, tali pazienti devono essere nuovamente sottoposti al test dopo una settimana circa.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati campioni contenenti potenziali interferenti:

- Campioni altamente emolizzati (n = 3)
- Fattore Reumatoide (fino a 1048 UI/ml) (n = 5)
- Bilirubina (fino a 11 mg/dl) (n = 5)
- Trigliceridi (fino a 1281 mg/dl) (n = 4).

In nessun caso il kit Syphilis IgM veniva influenzato dal campione.

13. SPECIFICITA' E SENSIBILITA' DIAGNOSTICA

Sono stati analizzati 160 sieri in confronto con un altro metodo immunoenzimatico. Si sono trovati i seguenti risultati: 109 sieri sono risultati negativi e 49 sono risultati positivi su entrambi i kits.

		Reference	
		+	-
Diesse	+	49	2
	-	0	109

Il kit ha una specificità del 100% (CI 95%: 92.7-100) e una sensibilità del 98.2% (CI 95%: 93.7-99.5).

14. PRECISIONE

Precisione all'interno della seduta

	No. repliche	Media Index	SD	CV%
Lot. no. 023	10	2.7	0.12	4
Lot. no. 024	12	2.2	0.14	6
Lot. no. 025	9	2.0	0.10	5

Precisione tra sedute e tra lotti

Campione	Media Index			Media	S.D.	CV%
	Lot 023	Lot 024	Lot 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS TREPONEMA IgM

(English)

1. INTENDED USE

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

2. INTRODUCTION

The serological diagnosis of Syphilis is performed by demonstrating the presence of significant levels of specific antibodies for Treponema pallidum in the patient's serum.

The reference method used is the FTA-ABS technique which allows the detection of both IgG and IgM. However, its execution is laborious and the interpretation of the results is not simple; alternative methods have therefore been found to simplify the procedure. ELISA gives completely automated, reproducible and specific results, and for this reason is proposed by many operators. The specific assay of IgM as opposed to IgG is of great importance in the diagnosis of congenital Syphilis.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the capture of human IgM and subsequent detection of those which are specific, through their binding of the antigen.

Capture is performed using monoclonal antibodies bound to the solid phase (microplate wells on the device). The antigen is composed of a mixture of purified recombinant proteins of Treponema pallidum labelled with peroxidase. 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 (REF 81051).

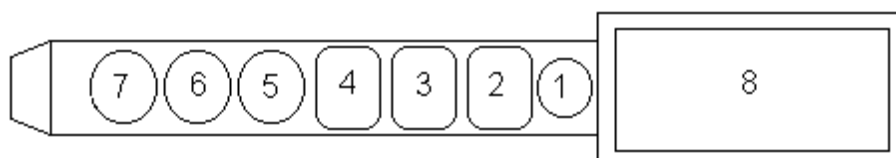
The kit is sufficient for 12 tests (REF 81051/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 81051).

2 packages each containing 6 devices (REF 81051/12).

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 anti-human IgM monoclonal antibodies

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

Contents: mixture of recombinant proteins of *Treponema pallidum* labelled with HRP 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
- 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 test serum can be interpreted as follows:

NEGATIVE: when the result is < 0.8

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the result is between 0.8 and 1.2.

POSITIVE: when the ratio is > 1.2

In the case of a doubtful/equivocal result, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, take a new sample.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The results of this test should be interpreted in conjunction with other clinical and laboratory data.

As in the IgM response in other infectious diseases, a small number of Syphilis patients may present persistent low levels of IgM to *T. pallidum* even after the normal maximum period of 1-2 years.

In cases of suspected very early Syphilis in which the test may result negative, these patients should be retested about 1 week later.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

The following samples were tested containing potentially interfering substances:

- Highly hemolyzed samples (n = 3)
- Rheumatoid Factor (up to 1048 IU/ml) (n = 5)
- Bilirubin (up to 11 mg/dl) (n = 5)
- Triglycerides (up to 1281 mg/dl) (n = 4).

In no case was the result of the Syphilis IgM test influenced by the type of sample.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

160 samples were tested comparatively with another immunoenzymatic method. The following results were found: 109 sera gave negative results and 49 sera gave positive results with both kits.

Diesse		Reference	
		+	-
	+	49	2
	-	0	109

The kit shows a specificity of 100% (CI 95%: 92.7-100) and a sensitivity of 98.2% (CI 95%: 93.7-99.5).

14. PRECISION

Within-run precision

	No. of replicates	Mean Index	St.Dev.	CV%
Lot. no. 023	10	2.7	0.12	4
Lot. no. 024	12	2.2	0.14	6
Lot. no. 025	9	2.0	0.10	5

Between-run precision and Precision between batches

Sample	Mean Index			Mean	St.Dev.	CV%
	Lot 023	Lot 024	Lot 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS TREPONEMA IgM

1. ÚČEL POUŽITÍ

KVALITATIVNÍ STANOVENÍ PROTILÁTEK TŘÍDY IgM PROTI TREPONEMA PALLIDUM V LIDSKÉM SÉRU POMOCÍ JEDNORÁZOVÉHO NÁSTROJE APLIKOVANÉHO DO ZAŘÍZENÍ CHORUS

2. ÚVOD

Serologická diagnóza syfilis se provádí prokázáním přítomnosti vysokého množství specifických protilátek proti *Treponema pallidum* v pacientově séru.

Jako referenční metoda slouží technika FTA-ABS, která umožňuje detekovat jak IgG, tak IgM. Její provedení je ale pracné a vyhodnotit výsledky není snadné. Proto byly vyvinuty alternativní metody, které tuto proceduru zjednodušují. Protože ELISA nabízí plně automatizované, reprodukovatelné a specifické výsledky, mnoho operátorů doporučuje právě ji. Specifická zkouška na IgM protilátky versus IgG je velice důležitá při diagnóze kongenitální syfilis.

3. PRINCIP METODY

Tento test je založen na zachycení lidských IgM protilátek a následné detekci protilátek specifických, které se naváží na antigen.

Zachycení protilátek se provádí pomocí monoklonálních protilátek navázaných na pevné bázi (titrační jamky na nástroji). Antigen se skládá ze směsi purifikovaných rekombinantních bílkovin *Treponema pallidum* značených peroxidázou.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné na provedení tohoto testu za pomoci zařízení Chorus.

4. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 81051).

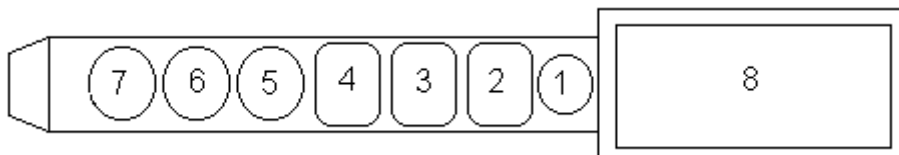
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 81051/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 81051).

2 balení po 6 nástrojích (REF 81051/12).

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



Popis:

Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem.

Pozice 7: Prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA potažená anti-lidskými monoklonálními IgM protilátkami

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetrametylbenzidin 0.26 mg/mL a H₂O₂ 0.01% stabilizovaný v 0.05 mol/L citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující fenol 0.05%, Bronidox 0.02% a indikátor přítomnosti séra

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: směs rekombinantních proteinů *Treponema Pallidum* značených HRP ve fosfátovém pufru obsahujícím fenol 0.05% a Bronidox 0.02%

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA, do níž operátor umístí neředěné sérum

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.175 mL

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje Proclin a Gentamycin, **tekutina připravena k použití.**

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM 1 x 0.425 mL

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje Proclin a Gentamycin, **tekutina připravena k použití.**

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

5. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Po otevření nebo přípravě mají reagencie omezenou stabilitu.

NÁSTROJ	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLNÍ SÉRUM	8 týdnů při teplotě 2/8°C

6. UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Pozor:

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

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

5. Nepipetujte ústy. Při nakládání se vzorky mějte vždy nasazené jednorázové rukavice a ochranu očí. Po umístění nástrojů do zařízení CHORUS si vždy důkladně umyjte ruce.
6. Následující reagencie obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých substancí:
 - c) konjugát obsahuje fenol,
 - d) substrát je kyselina.
 Přejde-li jakákoliv reagencie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.
7. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1,0 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
8. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1.0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve ořídáním vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiály obsahující chlornan sodný nekládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

13. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
14. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
15. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagenty, nepoužívejte.
16. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte proto, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
20. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
21. Použití silně hemolyzovaných vzorků nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
22. Než do zařízení nástroje vložíte, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
23. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
24. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.

7. TYP A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Vzorek se skládá ze séra získaného běžným způsobem ze žíly, který byl ošetřen v souladu se všemi opatřeními předepsanými v rámci správné laboratorní praxe. Čerstvé sérum je možné skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C nebo zmrazit na delší období na teplotu -20 °C; rozmrazit se smí maximálně 3krát. Rozmrazené vzorky je třeba před použitím opatrně protřepat. Mikrobiální kontaminace může vážně poškodit kvalitu vzorku a vést k chybným výsledkům.

Nesmějí se používat silně lipemické, ikterické, hemolyzované ani kontaminované vzorky.

Test není možné aplikovat na plazmu.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, jej opět uzavřete.
2. Podle instrukcí pod body 1 a 8 uvedenými v Opatřeních pro správné provedení testu zkontrolujte stav nástroje.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Nástroje umístěte do zařízení Chorus a proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle Návodu na obsluhu zařízení Chorus.

9. POTVRZENÍ TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte jej v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba opakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení chorus vyjadřuje výsledek jako INDEX (poměr mezi OD hodnotou testovaného vzorku a Cut-Off hodnotou), který lze použít jako kvantitativní míru, protože je proporcionální množství přítomných specifických IgM.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li poměr > 1.2.

NEGATIVNÍ: je-li poměr < 0.8.

SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 0.8 a 1.2.

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

11. OMEZENÍ PROCEDURY

Výsledky tohoto testu je třeba interpretovat společně s jinými klinickými a laboratorními daty.

Jako je tomu u IgM odezvy i u jiných infekčních onemocnění, může malý počet pacientů se syfilis trvale vykazovat nízkou úroveň IgM protilátek proti T. pallidum i po uplynutí obvyklé maximální periody 1–2 let.

U případů, kde je podezření na velmi nedávnou infekci Syfilis, při níž by mohly testy vyjít jako negativní, je třeba test zhruba za 1 týden zopakovat.

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Byly testovány následující vzorky obsahující potenciálně rušivé substance:

- Vysoce hemolyzované vzorky (n = 3)
- Revmatický faktor (do 1048 IU/ml) (n = 5)
- Bilirubin (do 11 mg/dl) (n = 5)
- Triglyceridy (do 1281 mg/dl) (n = 4).

V žádném z případů typ vzorku neovlivnil výsledek testu na Syfilis IgM.

13. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFICITA

Bylo testováno 160 vzorků a srovnáno s výsledky testování jinou imunoenzymatickou metodou. Byly zjištěny následující výsledky: u obou testovacích souprav vyšlo 109 sér negativních a 49 sér dalo pozitivní výsledek.

Díse		Reference	
		+	-
	+	49	2
	-	0	109

Tato souprava vykazuje 100% specifitu (CI 95 %: 92.7–100) a citlivost 98.2% (CI 95 %: 93.7–99.5).

14. PŘESNOST

Přesnost v rámci měření

	Počet replikátů	Střední index	Stand. odchylka	CV %
Šarže č. 023	10	2.7	0.12	4
Šarže č. 024	12	2.2	0.14	6
Šarže č. 025	9	2.0	0.10	5

Přesnost mezi měřeními a přesnost mezi šaržemi

Vzorek	Střední index			Průměr	Stand. odchylka	CV %
	Šarže 023	Šarže 024	Šarže 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. GLOSÁŘ POUŽITÝCH SYMBOLŮ

	Datum výroby
	Použitelné do
	Nepoužívejte opakovaně
	Pozor, čtěte přiložené dokumenty
	Výrobce
	Obsah stačí na < n > testů
	Teplotní omezení
	Čtěte návod k použití
	Biologická rizika
	Katalogové číslo
	Lékařské vybavení pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Kód šarže

16. POUŽITÁ LITERATURA

7. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
8. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
9. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
10. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
11. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of Treponema pallidum Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
12. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of Treponema pallidum. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italy
Tel. 0577-587111



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS TREPONEMA IgM

(Deutsch)

1. VERWENDUNGSZWECK QUALITATIVE BESTIMMUNG DER ANTI-TREPONEMA PALLIDUM-IgM-ANTIKÖRPER IM HUMANSERUM MIT EINEM EINWEG-TESTMODUL, DAS IN KOMBINATION MIT CHORUS LABORANALYSATOREN VERWENDET WIRD.

2. EINLEITUNG Die serologische Diagnostik der Syphilis wird durchgeführt, um festzustellen, ob im Serum des Patienten eine größere Menge spezifischer Antikörper für Treponema pallidum vorhanden ist. Die Referenzmethode ist der FTA-Abs-Test, mit dem sowohl die IgG- als auch die IgM-Antikörper nachgewiesen werden können. Da die Ausführung aufwändig und die Interpretation des Tests nicht einfach ist, wurden alternative Methoden gefunden, die das Verfahren vereinfachen. Die ELISA-Methode liefert vollkommen automatisch wiederholbare und spezifische Ergebnisse und wird daher von vielen Anwendern empfohlen. Als wichtig erweist sich die quantitative Bestimmung der von den IgG getrennten IgM-Antikörpern, da dies für die Diagnose der kongenitalen Syphilis hilfreich ist.

3. TESTPRINZIP

Der Test basiert auf dem „Fang“ der Anti-human-IgM-Antikörper und dem anschließenden Nachweis der spezifischen Antikörper, wobei ihre Fähigkeit, das Antigen zu binden, genutzt wird.

Der „Fang“ erfolgt mit monoklonalen Antikörpern, die an die Festphase gebunden sind (Mikrotitervertiefung auf dem Testmodul). Das Antigen besteht aus einer Mischung rekombinanter, Peroxidase-markierter Proteine von Treponema pallidum.

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

4. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen (REF 81051).

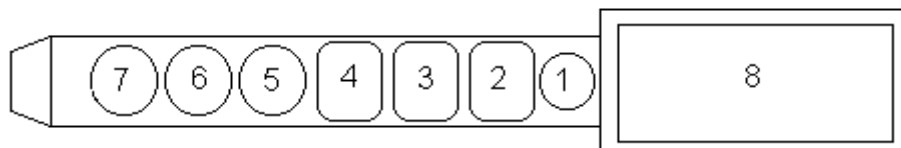
Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen (REF 81051/12).

DD TESTMODULE

6 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81051).

2 Packungen mit je 6 Testmodulen (REF 81051/12).

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



Beschreibung:

Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG, die mit monoklonalen Anti-human-IgM-Antikörpern sensibilisiert ist

Position 5: nicht sensibilisierte MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Position 4: TMB SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Proteinlösung mit 0.05% Phenol, 0.02% Bronidox und einem Indikator, der die Präsenz von Serum erfasst

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: Mischung aus rekombinanten, HRP-markierten Proteinen von *Treponema pallidum* in Phosphatpufferlösung mit 0.05% Phenol und 0.02% Bronidox

Position 1: LEERE VERTIEFUNG, in die der Bediener das unverdünnte Serum füllt

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.425 mL

Inhalt: verdünntes Humanserum mit bekannter Antikörperkonzentration mit Proclin und Gentamycin, flüssig, gebrauchsfertig

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

5. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

Das Verfalldatum steht auf dem Etikett auf dem Testmodul.

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

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

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT. BEI 2–8°C AUFBEWAHREN

Achtung:

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

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

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

5. Nicht mit dem Mund pipettieren. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
6. Die folgenden Reagenzien enthalten geringe Konzentrationen schädlicher oder reizender Substanzen:
 - c) Das Konjugat enthält Phenol
 - d) Das Substrat ist sauer

Wenn ein Reagenz mit der Haut oder mit den Augen in Berührung kommt, diese mit reichlich Wasser spülen.

7. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 % igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
8. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit gereinigt werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Reinigung von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

13. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
14. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
15. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen.
16. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
17. Kontrollieren, ob der Chorus Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Chorus Gebrauchsanleitung).
18. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
19. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden.
20. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
21. Stark hämolytische oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
22. Vor dem Einsetzen des Testmoduls in den Chorus Laboranalysator sicherstellen, dass sich in der Reaktionsvertiefung keine Fremdkörper befinden.
23. Das zu untersuchende Serum (50 µl) in die Vertiefung 1 des Testmoduls pipettieren (siehe Abbildung).
24. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird. Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20 °C eingefroren. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden. Nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen. Durch eine mikrobiische Kontamination kann die Qualität der Probe stark beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Stark lipämische, ikterische, hämolytische oder kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Der Test ist nicht bei humanem Plasma anwendbar.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 6 Warnhinweise zur Analyse, Punkte 1 und 8, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 50 µl des zu untersuchenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

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

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

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

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus Laboranalysator liefert das Ergebnis als INDEX (Verhältnis zwischen dem Messwert der OD der untersuchten Probe und dem des Cut-off), der als quantitatives Maß verwendet werden kann, da er sich proportional zur Menge der spezifischen IgM-Antikörper verhält.

Die Probe ist:

Negativ: bei Ergebnis <0.8

Grauzone/Mehrdeutig: bei Ergebnis zwischen 0.8 und 1.2

Positiv: bei Ergebnis >1.2

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig liegen, die Blutabnahme nach 1-2 Wochen wiederholen.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Die Ergebnisse dieses Tests müssen zusammen mit anderen klinischen und Labordaten interpretiert werden.

Wie im Fall der IgM-Antwort bei anderen Infektionskrankheiten kann ein kleiner Prozentsatz der Patienten mit Syphilis auch nach der normalen maximalen Zeit von 1–2 Jahren niedrige Werte der Anti-T. pallidum-IgM-Antikörper aufweisen.

Bei sehr frühem Verdacht auf Syphilis, wenn der Test noch negativ ausfallen könnte, müssen die Patienten dem Test nach ungefähr einer Woche erneut unterzogen werden.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden Proben mit potentiellen Interferenten getestet:

- Stark hämolytische Proben (n = 3)
- Rheumafaktor (bis 1048 IU/ml) (n = 5)
- Bilirubin (bis 11 mg/dl) (n = 5)
- Triglyceride (bis 1281 mg/dl) (n = 4).

Der Testsatz Syphilis IgM wurde in keinem Fall von der Probe beeinflusst.

13. DIAGNOSTISCHE SPEZIFITÄT UND SENSIVITÄT

Es wurden 160 Seren im Vergleich mit einem anderen Enzymimmunoassay-Verfahren analysiert. Die Analyse brachte folgende Ergebnisse: 109 Seren waren negativ und 49 waren bei beiden Testsätzen positiv.

		Referenz	
		+	-
Diesse	+	49	2
	-	0	109

Die Spezifität des Testsatzes beträgt 100 % (CI 95 %: 92.7–100) und die Sensivität 98,2 % (CI 95 %: 93.7–99,5).

14. PRÄZISION

Präzision innerhalb eines Durchlaufs

	Anz. der Parallelproben	Mittelwert Index	SD	CV %
Chargenr. 023	10	2.7	0.12	4
Chargenr. 024	12	2.2	0.14	6
Chargenr. 025	9	2.0	0.10	5

Präzision zwischen Durchläufen und Chargen

Probe	Mittelwert Index			Mittelwert	SD	CV %
	Charge 023	Charge 024	Charge 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. SYMBOLERKLÄRUNG

	DE	Herstellungsdatum
	DE	Verwendbar bis
	DE	Nicht wieder verwenden
	DE	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen
	DE	Hersteller
	DE	Inhalt reicht für „n“ Tests
	DE	Temperaturgrenzwerte
	DE	Die Gebrauchsanleitung lesen
	DE	Biologisches Risiko
	DE	Katalognummer
	DE	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum
	DE	Chargennummer

16 LITERATUR

7. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
8. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
9. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
10. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
11. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of Treponema pallidum Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
12. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of Treponema pallidum. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italien
Tel. 0039-0577-587111



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS IgM ΣΥΦΙΛΗΣ

(Ελληνικά)

1. ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ IgG ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΩΧΡΟΥ ΤΡΗΠΟΝΗΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΜΕ ΣΕΤ ΜΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗ ΣΥΣΚΕΥΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ CHORUS.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ορολογική διάγνωση της Σύφιλης γίνεται με την διαπίστωση ύπαρξης στον ορό του ασθενή, υψηλού αριθμού ειδικών αντισωμάτων κατά του ωχρού Τρηπώνηματος. Η μέθοδος αναφοράς είναι η FTA-ABS που επιτρέπει την ανίχνευση τόσο των IgG όσο και των IgM. Επειδή η εκτέλεση είναι δύσκολη και επίπονη και η ερμηνεία του τεστ όχι τόσο απλή, επινοήθηκαν εναλλακτικές μέθοδοι για την απλοποίηση της διαδικασίας. Η ELISA παρέχει πλήρως αυτοματοποιημένα ειδικά αποτελέσματα που είναι δυνατόν να αναπαραχθούν και γι' αυτό τον λόγο προτείνεται από πολλούς χρήστες.

Σημαντική αποδεικνύεται η ειδική ανάλυση των IgM απομονωμένων από τα IgG γιατί βοηθάει στην διάγνωση της συγγενούς Σύφιλης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ βασίζεται στη συλλογή των ανθρώπινων IgM και στη μετέπειτα ανίχνευση των ειδικών, εκμεταλλευόμενοι την ικανότητά τους να συνδέονται με το αντιγόνο.

Η σύλληψη και συλλογή γίνεται με μονοκλωνικά αντισώματα συνδεδεμένα με τη στερεά φάση (κυψελίδες με μικροπλακίδια στη συσκευή). Το αντιγόνο αποτελείται από ένα μείγμα ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών του ωχρού Τρηπώνηματος, σεσημασμένων με υπεροξειδάση.

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια για την εκτέλεση του τεστ, με τη χρήση της συσκευής Chorus.

4. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το κιτ καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 81051).

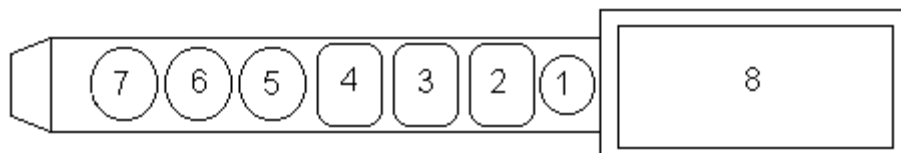
Το κιτ καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 81051/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81051).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 81051/12).

Χρήση: Αφήστε να ισορροπήσει μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε μία σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζεστε και βάλτε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, που περιέχει γέλη πυριτίας, αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε την πιέζοντας το ειδικό σύστημα κλεισίματος. Αποθηκεύστε στους 2/8°C.



Περιγραφή

Θέση 8: Χώρος ετικέτας γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: άδεια

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ ευαισθητοποιημένη με επίστρωμα από ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα IgM.

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05%, Bronidox 0.02% και έναν δείκτη που ανιχνεύει την παρουσία ορού.

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: μείγμα ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών του ωχρού Τρηπονήματος σεσημασμένες με HRP, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ όπου ο χρήστης πρέπει να ρίξει τον μη διαλυμένο ορό.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα με proclin και gentamycin, υγρός, έτοιμος για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Στάνταρντ υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λ.π.
- Μικροπιπέτες που αναρροφούν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την απόρριψη των δυνητικά μολυσματικών υλικών.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό ελέγχου (βλ. κεφ. 9 Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε σετ και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα Αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ	8 εβδομάδες σε 2/8°C

6. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Προσοχή:

Αυτή η συσκευασία περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε εγκεκριμένα από την FDA τεστ, τόσο όσον αφορά την ανίχνευση του HbsAg όσο και για τα αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσματικό. Χρησιμοποιείτε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα παίρνοντας όλες τις προφυλάξεις που προβλέπονται από τους κανονισμούς ασφαλείας του εργαστηρίου.

Διαχείριση των κατάλοιπων: τα δείγματα του ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως κατάλοιπα δυνητικά μολυσματικά και να απορρίπτονται σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μετά από κάθε τοποθέτηση των σετ στο CHORUS.
2. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:

- α) το συζυγές περιέχει φαινόλη
 - β) το υπόστρωμα είναι όξινο
- Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
3. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
 4. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η επιφάνεια να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την διαδικασία ανάλυσης. Αν τα υγρά περιείχαν ένα οξύ, τότε στεγνώστε πολύ καλά την επιφάνεια πριν χρησιμοποιήσετε το υποχλωριώδες νάτριο. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση φέρτε τα σετ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και χρησιμοποιήστε τα μέσα σε 60 λεπτά.

1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με την συσκευή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο της.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην πειράζετε και μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο των γραμμωτό κωδικό στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης barcode να τον διαβάσει σωστά.
7. Τους γραμμωτούς κωδικούς που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τους περάσετε με το χέρι.
8. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
9. Τα δείγματα που παρουσιάζουν ισχυρή αιμόλυση, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.
10. Πριν τοποθετήσετε το σετ στη συσκευή Chorus βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
11. Περάστε τον ορό που θα αναλυθεί (50 μl) στην κυψελίδα 1 του σετ (βλ. εικόνα).
12. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το δείγμα είναι ένας ορός που προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με φλεβική λήψη και έχει περάσει από όλες τις διαδικασίες που προβλέπονται από τους κανονισμούς των εργαστηρίων. Ο νοπός ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C, ενώ για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξετε στους -20°C. Αποφεύγετε τη χρήση αυτο-αποψυχόμενων ψυγείων για τη συντήρηση των δειγμάτων. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές. Μετά από την απόψυξη και πριν να το ρίξετε στην κυψελίδα, ανακινήστε το καλά. Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του δείγματος, και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Δείγματα με ισχυρή αιμόλυση, με ίκτερο, λιπαιμικά ή μολυσμένα, δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται.

Το τεστ δεν μπορεί να γίνει πάνω σε ανθρώπινο πλάσμα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλειστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 6 Αναλυτικές Οδηγίες, σημεία 1 και 8.
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός σετ, 50 μl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ακρίβεια του τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης της συσκευής. Αν η συσκευή επισημάνει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι την βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

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

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

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η συσκευή Chorus παρέχει το αποτέλεσμα σε INDEX (λόγος της τιμής του D.O. του υπό ανάλυση δείγματος προς αυτήν του Cut-off) και που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ποσοτική μέτρηση, καθώς είναι ανάλογος προς την ποσότητα των ειδικών IgM.

Το δείγμα ορού μπορεί να αποδειχθεί:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν ο Index είναι > 1.2 .

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν ο Index είναι < 0.8 .

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: για όλες τις τιμές μεταξύ 0.8 και 1.2.

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές, επαναλάβετε την αιμοληψία μετά από 1-2 εβδομάδες.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Το αποτέλεσμα αυτού του τεστ πρέπει να συνεκτιμηθεί μαζί με άλλα κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα.

Όπως συμβαίνει στην απόκριση σε IgM σε άλλες λοιμώδεις νόσους, ένα μικρό ποσοστό ασθενών που πάσχουν από σύφιλη, μπορεί να παρουσιάσει χαμηλή συγκέντρωση IgM αντι-ωχρού Τρηπονήματος, ακόμα και μετά την παρέλευση του φυσιολογικού ανώτατου χρονικού διαστήματος των 1-2 ετών.

Σε περίπτωση που υπάρχει υποψία πολύ πρώιμης σύφιλης, κατά την οποία το τεστ μπορεί να δώσει αρνητικό αποτέλεσμα, οι ασθενείς αυτοί πρέπει να υποβληθούν σε ένα νέο τεστ μετά από μία εβδομάδα περίπου.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Έγιναν αναλύσεις σε δείγματα που περιείχαν δυνητικά στοιχεία παρεμβολής:

- Δείγματα με εξαιρετικά υψηλή αιμόλυση (n=3)
- Ρευματοειδής παράγων (μέχρι 1048 UI/ml) (n = 5)
- Χολερυθρίνη (μέχρι 11 mg/dl) (n = 5)
- Τριγλυκερίδια (μέχρι 1281 mg/dl) (n = 4).

Σε καμία περίπτωση το αποτέλεσμα του kit Syphilis IgM δεν επηρεάστηκε από το δείγμα.

13. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Αναλύθηκαν 160 οροί σε σύγκριση με μια άλλη ανοσοενζυματική μέθοδο. Βρέθηκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα: 109 οροί βρέθηκαν αρνητικοί και 49 ήταν θετικοί σε αμφότερα τα kit.

		ΑΝΑΦΟΡΑ	
		+	-
Diesse	+	49	2
	-	0	109

Το kit παρουσιάζει ειδικότητα 100% (CI 95%: 92.7-100) και ευαισθησία 98.2% (CI 95%: 93.7-99.5).

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Ακρίβεια κατά την ανάλυση

	Αριθμός επαναλήψεων	M. T. Index	Τυπική Απόκλιση	CV%
Παρτίδα 023	10	2.7	0.12	4
Παρτίδα 024	12	2.2	0.14	6
Παρτίδα 025	9	2.0	0.10	5

Ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων και μεταξύ παρτίδων

Δείγμα	M. T. Index			M. T.	Τυπική Απόκλιση	CV%
	Παρτίδα 023	Παρτίδα 024	Παρτίδα 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of Treponema pallidum Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of Treponema pallidum. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS TREPONEMA IgM

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgM ANTI TREPONEMA PALLIDUM EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

El diagnóstico serológico de la Sífilis se realiza mediante la detección de niveles significativos de anticuerpos específicos contra *Treponema pallidum* en muestras de suero

El método de referencia utilizado es el FTA-ABS, que permite la detección de IgG e IgM. Pero sin embargo su proceso es laborioso y la interpretación de la prueba no es simple, por lo que se han introducido métodos alternativos para simplificar dicho procedimiento.

La técnica ELISA permite automatizar el método y reportar resultados rápidos, reproducibles y específicos, siendo el método preferido por muchos laboratorios.

La determinación de anticuerpos IgM a diferencia de los anticuerpos IgG es de gran importancia ~~para~~ en el diagnóstico de Sífilis congénita.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El test se basa en la captura de las IgM humanas y la posterior detección de las inmunoglobulinas específicas a través de su unión con el antígeno.

La captura se efectúa por medio de anticuerpos monoclonales unidos en la fase sólida (micropocillos posicionados en el dispositivo). El antígeno está constituido por una mezcla de proteínas recombinantes de *Treponema pallidum* marcadas con peroxidasa.

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

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 81051).

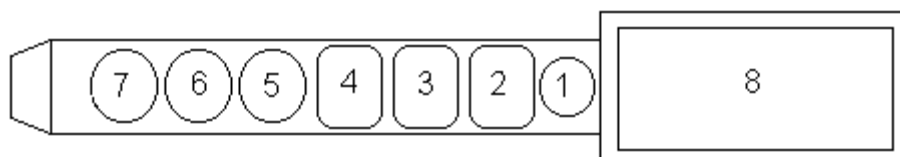
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 81051/12).

DD DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81051).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 81051/12).

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 fuertemente. Conservar a 2/8°C.



Descripción:

Posición 8: Espacio disponible para etiquetas con códigos de barra

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-IgM humanos

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO 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 fenol al 0.05% y Bronidox 0.02% y un marcador para revelar la presencia de suero

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: mezcla de proteínas recombinantes del *Treponema pallidum* marcadas con HRP, en una solución fosfato tamponada que contiene 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
- Agua Destilada u desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer volúmenes de 50-200 µL.
- Guantes de un solo uso
- Solución de hipoclorito de 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 del test)

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

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO. CONSERVAR A 2-8°C

Cuidado:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido probados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas 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 infecto. Todos los materiales de origen humano tienen que manejarse según las prácticas 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 manipular 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 entrara 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 hondo.
3. Comprobar la presencia 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.
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 nº1 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 DEL TEST

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 muestra se considera:

Positivo: si el Index es > 1.2 .

Negativo: si el Index es < 0.8

Dudoso/Equívoco: para todos los valores entre 0.8 y 1.2

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

11. LIMITACIONES

El resultado de test tendría que ser evaluado conjuntamente con otros resultados procedentes de otros procedimientos de diagnóstico.

Como en el caso de la respuesta en IgM en otras enfermedades infecciosas, un pequeño porcentaje de pacientes sífilíticos pueden tener bajos niveles de di IgM anti-T. pallidum, también después del normal período máximo de dos años.

En casos sospechosos de Sífilis muy precoz, en los cuales la prueba podría dar resultado negativo, estos pacientes deben efectuar el test después de cerca de una semana.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La presencia en las muestras de potenciales interferentes como:

- Muestras fuertemente hemolizadas (n = 3)
- Factor Reumatóideo (hasta 1048 UI/ml) (n = 5)
- Bilirubina (hasta 11 mg/dl) (n = 5)
- Triglicéridos (hasta 1281 mg/dl) (n = 4).

En ningún caso afectaba el kit Syphilis IgM.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DIAGNÓSTICO

Se analizaron 160 muestras por comparación se utilizó otro método inmunoenzimático.

Se encontraron los siguientes resultados: 109 sueros fueron negativos y 49 fueron positivos en ambos kits.

		REFERENCIA	
Diesse	+	+	-
		49	2
	-	0	109

El kit tiene una especificidad del 100% (CI 95%: 92.7-100) y una sensibilidad del 98.2% (CI 95%: 93.7-99.5).

14. REPRODUCIBILIDAD

Reproducibilidad intra-ensayo

	Número de réplicas	Media Index	Desv. Estándar	CV%
Lot. no. 023	10	2.7	0.12	4
Lot. no. 024	12	2.2	0.14	6
Lot. no. 025	9	2.0	0.10	5

Reproducibilidad entre ensayos y entre lotes

Muestra	Media Index			Media	Desv. Estándar	CV%
	Lot 023	Lot 024	Lot 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema Pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema Pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema Pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS TREPONEMA IgM

(Français)

1. APPLICATION

DETERMINATION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgM ANTI-TREPONEMA PALLIDUM DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF MONO-USAGE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS

2. INTRODUCTION

Le diagnostic sérologique de la syphilis s'effectue à travers l'identification des anticorps spécifiques pour le Tréponème pallidum à titre significatif dans le sérum du patient. La FTA-ABS est la méthode de référence qui permet la révélation des IgG aussi que des IgM. Puisque l'exécution de cette méthode est laborieuse et l'interprétation des résultats n'est pas facile, on a recherché des méthodes alternatives pour simplifier le déroulement. L'ELISA offre des résultats reproductibles et spécifiques en manière complètement automatique et on le préfère pour ce motif. Le dosage spécifique des IgM plutôt que des IgG est très important dans le diagnostic de la syphilis congénitale.

3. PRINCIPE

Le test est basé sur le principe de la capture des IgM humaines et la révélation de celles qui sont spécifiques à travers leur capacité à lier l'antigène.

On effectue la capture en utilisant les anticorps monoclonaux anti-IgM humaines présents sur la phase solide (puits de la microplaque sur le dispositif). L'antigène est constitué de protéines recombinantes du Treponema pallidum marqué à la peroxydase.

Les dispositifs mono usage contiennent tous les réactifs pour effectuer le test appliqué aux instruments Chorus.

4. CONTENU DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 81051).

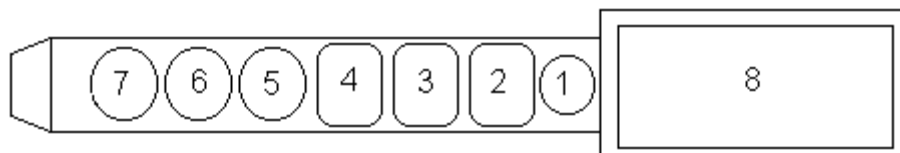
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 81051/12).

DD DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81051).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 81051/12).

Usage: **Équilibrer un sachet à température ambiante**, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisées dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C.



Description:

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

Position 7: Vide

Position 6: PUIITS DE LA MICROPLAQUE sensibilisé avec des anticorps monoclonaux anti-IgM humaines.

Position 5: PUIITS DE LA MICROPLAQUE non sensibilisé

Position 4: SUBSTRAT TMB

Contenu: Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/mL et du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0.01% stabilisé dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH = 3.8)

Position 3: DILUENT DES ECHANTILLONS

Contenu: Solution protéique additionnée de 0.05% de phénol et 0.02% de bronidox et une indicateur pour révéler la présence du sérum

Position 2: CONJUGUE

Contenu: Protéines recombinants du *Treponema pallidum* marqués à la peroxydase, dans un tampon phosphate contenant 0.05% de phénol et 0.02% de bronidox

Position 1: PUIITS VIDE dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.175 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage.**

CONTROL + CONTROLE POSITIF 1 x 0.425 mL

Contenu: Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant Proclin et Gentamycin, **liquid prêt à l'usage.**

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Eau distillée ou désionisée
- Verrerie normale de laboratoire (éprouvette, pipette, etc..)
- Micropipette capable de prélever 50-200 µl de solution
- Gants mono-usage
- Solution d'hypochlorure de sodium (5%)
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectieux

5. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Conserver les réactifs à +2-8°C. En cas d'une température de conservation incorrecte, il faut répéter la calibration et contrôler le résultat à travers l'utilisation du sérum de contrôle (voir section 9, Validation du test). La date de péremption est imprimée sur chaque flacon et sur l'étiquette-coffret.

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

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

6. PRECAUTIONS D'UTILISATION POUR DIAGNOSTIC IN VITRO.

ATTENTION:

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine. Les réactifs contenant du matériel d'origine humaine ont été contrôlés et trouvés négatifs pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2, anti-VHC et pour l'antigène HBsAg (selon la méthode FDA). Cependant, puisqu'il n'existe pas de méthode diagnostique capable de garantir l'absence des agents infectieux, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux et par conséquent manipulés avec précaution.

Elimination des résidus: les échantillons de serum, les étalons et les bandelettes usages doivent être traités comme des déchets infectés, et donc éliminés conformément aux dispositions de loi en vigueur.

PRECAUTIONS DE SECURITE

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à usage unique et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons. Se laver soigneusement les mains après avoir distribué les dispositifs dans le Chorus.
2. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
 - a) Le conjugué contient du phénol
 - b) Le substrat est acide.
3. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorure de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.

4. En cas de versement accidentel de matériaux potentiellement infectieux, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorure de sodium (1%), avant de continuer le test. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorure de sodium. Tout matériel (notamment les gants) souillé par d'éventuelles éclaboussures doit être considéré comme potentiellement infectieux et éliminé selon la réglementation en vigueur. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant l'hypochlorure de sodium.

PRECAUTIONS ANALYTIQUES

Laisser les réactifs revenir à température ambiante (+18-30°C) et utiliser entre 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut contrôler qu'il est bien distribué sur le fond.
3. Contrôler la présence des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif même; il ne faut pas utiliser des dispositifs qui présentent au contrôle visuel l'absence de quelque réactif.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
5. Contrôler l'assiette de l'instrument Chorus (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
6. Ne pas modifier le code à barres sur la poignée du dispositif à la fin de permettre la correcte lecture par l'instrument.
7. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
8. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorure pendant la conservation et l'usage.
9. Les échantillons fortement hémolysés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
10. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
11. Dispenser le sérum en examen (50 µl) dans le puits no. 1 du dispositif (voir la figure).
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est constitué par sérum obtenu du sang prélevé normalement et manipulé selon les procédés standard de laboratoire. Le sérum frais peut être stocké à +2/+8°C pendant 4 jours; pour un stockage plus long, congeler les sérums à -20°C. Éviter l'utilisation de l'espace de congélateur à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Il ne faut pas les décongeler et recongeler plus de 3 fois. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant utilisation. Les échantillons qui présentent une contamination microbienne peuvent fausser les résultats. Ceux qui sont fortement lipémiques, ictériques ou contaminés ne doivent pas être utilisés.

Ne pas utiliser d'échantillon de plasma humain.

8. MODE OPERATOIRE

1. Découper le sachet du côté contenant la fermeture à pression, sortir le numéro de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 6 : Précautions analytiques no. 1 et 8.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque change du lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer la calibration (si nécessaire) et le test selon le procédé reporté dans le Manuel de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu (on l'utilise comme décrit dans le Manuel du Chorus). Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur au dehors du range d'acceptabilité, il faut répéter la calibration. Les résultats précédents viennent corrigés automatiquement.

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

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

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'instrument Chorus reporte un résultat comme INDEX (rapport entre la valeur de la D.O. de l'échantillon en examen et celle de la valeur seuil (Cut-Off); l'index peut être utilisé comme mesure quantitative, proportionnelle à la quantité des IgM spécifiques.

L'échantillon est considéré comme:

Positif : si l'Index est > 1.2
 Douteux/Equivoque : si l'Index est compris entre 0.8 et 1.2
 Négatif : si l'Index est < 0.8

Si le résultat est douteux/equivoque, répéter le test. Si le résultat est de nouveau douteux/equivoque, réaliser un nouveau prélèvement de l'échantillon de sang.

11. LIMITES DE LA METHODE

Les résultats de cette méthode doivent être utilisés ensemble avec les informations disponibles provenant de l'évaluation clinique et d'autres procédures diagnostiques.

Comme dans le cas d'autres maladies infectieuses, la réponse en IgM peut rester positive à titre bas en quelque sujet, même après le période maximum normal de 1-2 années. Si on suspecte une infection très précoce de syphilis et le résultat est négatif, il faut le répéter après une semaine.

12. SPECIFICITE ANALYTIQUE

Nous avons testé des échantillons contenant des substances potentiellement interférentes:

- Fortement hémolisés (n = 3)
- Facteur Rhumatoïde (jusqu'à 1048 UI/ml) (n = 5)
- Bilirubine (jusqu'à 11 mg/dl) (n = 5)
- Triglycérides (jusqu'à 1281 mg/dl) (n = 4).

On n'a trouvé aucune interférence.

13. SPECIFICITE' ET SENSIBILITE' DIAGNOSTIQUES

160 échantillons ont été analysés avec une autre méthode immunoenzymatique. On a trouvé les suivants résultats: 109 sérums sont résultats négatifs et 49 sont résultats positifs sur les deux kits.

		Reference	
Diesse	+	+	-
		49	2
	-	0	109

La spécificité est de 100% (CI 95%: 92.7-100) et la sensibilité de 98.2% (CI 95%: 93.7-99.5).

14. PRECISION

Précision dans la série

	Nombre de répliques	Moyen Index	S.D.	CV%
Lot. no. 023	10	2.7	0.12	4
Lot. no. 024	12	2.2	0.14	6
Lot. no. 025	9	2.0	0.10	5

Précision inter- séries et entre lots

Echantillon	Moyen Index			Moyen	S.D.	CV%
	Lot 023	Lot 024	Lot 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. REFERENCES

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema Pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema Pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema Pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS TREPONEMA IgM

(Português)

1. FINALIDADE

DETECÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS IgM CONTRA O TREPONEMA PALLIDUM EM SORO HUMANO, USANDO UM DISPOSITIVO DESCARTAVEL APLICADO AOS EQUIPAMENTOS CHORUS

2. INTRODUÇÃO

A diagnose sorológica de sífilis se realiza demonstrando a presença de anticorpos específicos contra o Treponema pallidum nas amostras dos pacientes.

O método de referência é FTA-ABS, que permite de detectar as IgG e as IgM. Porém, a execução é laboriosa e a interpretação dos resultados não é simples, portanto foram desenvolvidos métodos alternativos para simplificar o procedimento. O método ELISA é completamente automático e produz resultados reprodutíveis e específicos; por este motivo é usados por muitos operadores.

A detecção específica de IgM separadamente de IgG é muito importante para diagnose de sífilis congênita.

3. PRINCIPIO DE AÇÃO

O teste é baseado na captura das IgM humanas e sucessiva identificação de aquilas específicas, usando suas capacidades de ligar-se ao antígeno.

A captura é feita por meio de anticorpos monoclonais insolubilizados na fase sólida (cavidade de microplaca inserida no dispositivo). O antígeno é uma mistura de proteínas recombinantes de Treponema pallidum conjugadas com peroxidase.

Os dispositivos descartáveis contem todos os reagentes necessários para realizar o teste, se aplicados aos equipamentos CHORUS.

4. REAGENTES DO KIT E PREPARO

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 81051).

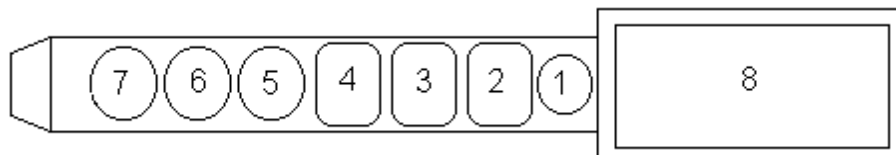
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 81051/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81051).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 81051/12).

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 anticorpos monoclonais anti IgM humanas

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 protéica, contendo fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para revelar a presença de soro

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: mistura de proteínas recombinantes de *Treponema pallidum*, conjugadas com peroxidase, em tampão fosfato, contendo fenol 0.05% e Bronidox 0.02%

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

CALIBRATOR 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
- Água destilada ou desmineralizada
- Vidraria de laboratório graduada e não.
- Micropipetas de precisão e ponteiros descartáveis de 50-200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio (5%)
- Contendedores 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 diagnóstico 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 contem baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - e) O conjugado contem fenol
 - f) 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 manta-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 esteja programado corretamente (ver o 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:

Positiva: quando o Index é >1.2

Negativa: quando o Index é <0.8

Incerto/Equivocado: para todos os valores entre 0.8 e <1.2

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

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Os resultados do teste precisam ser avaliados cuidadosamente e convalidados com avaliações clínicas e outros testes diagnósticos.

Como no caso de resposta IgM em outras doenças infecciosas, uma pequena percentagem de pacientes sífilíticos podem apresentar baixos níveis de IgM contra o T.pallidum, também depois do período normal de máximo 1-2 anos.

Nos casos suspeitos de sífilis muito precoce, nos quais o teste poderia resultar negativo, os pacientes precisam ser testados uma outra vez depois de acerca 1 semana

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas as seguintes amostras, contendo substâncias potencialmente interferentes:

- Amostras hemolizadas (n = 3)
- Fator Reumatoide (até 1048 UI/ml) (n = 5)
- Bilirrubina (até 11 mg/dl) (n = 5)
- Triglicérides (até 1281 mg/dl) (n = 4).

Em caso nenhum os resultados de Syphilis IgM foram influenciados

13. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Foram analisados 160 soros em comparação com outro método imunoenzimático. Foram registados os seguintes resultados: 109 soros deram resultados negativos e 49 deram resultados positivos em ambos os kits.

		REFERÊNCIA	
		+	-
Diese	+	49	2
	-	0	109

O produto mostra 100% de especificidade (CI 95%: 92.7-100) e 98.2% de sensibilidade (CI 95%: 93.7-99.5).

14. PRECISÃO

Precisão no teste

	Número de repetições	Média Index	D.P.	CV%
Lot. no. 023	10	2.7	0.12	4
Lot. no. 024	12	2.2	0.14	6
Lot. no. 025	9	2.0	0.10	5

Precisão entre testes e entre lotes

Amostra	Média Index			Média	D.P.	CV%
	Lote 023	Lote 024	Lote 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. BIBLIOGRAFIA

1. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
2. S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to *Treponema Pallidum*. J. Immunology 134: 585 (1985).
3. S.A. Lukehart: Identification and characterization of *Treponema Pallidum* antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
4. L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
5. M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema Pallidum* Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
6. M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of *Treponema pallidum*. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS TREPONEMA IgM

(Romana)

1. UTILIZARE RECOMANDATA

DETERMINAREA CALITATIVA DE ANTICORPI CLASA IgM- IMPOTRIVA TREPONEMA PALLIDUM IN SER UMAN UTILIZAND UN DISPOZITIV DE UNICA FOLOSINTA LA APLICAREA PE INSTRUMENTELE CHORUS

2. INTRODUCERE

Diagnosticarea serologica de Sifilis este efectuata demonstrand prezenta de nivele semnificative de anticorpi Treponema pallidum in serul pacientului.

Metoda de referinta utilizata este tehnica FTA-ABS care permite detectarea ambilor IgG si IgM. In orice caz, executia este laborioasa si interpretarea rezultatelor nu este simpla; s-au gasit metode alternative pentru simplificarea procedurii. ELISA ofera rezultate complet automate, reproductibile si specifice, si din acest motiv este propusa de multi operatori. Testul specific pentru IgM opus IgG este de mare importanta in diagnosticarea Sifilisului congenital.

3. PRINCIPIUL METODEI

Testul este bazat pe capturarea de IgM uman si detectia ulterioara a acelora specifici, prin legarea lor de antigen.

Capturarea este efectuata utilizand anticorpi monoclonali legati de faza solida (godeuri microplaci pe dispozitiv). Antigenul este compus din amestecul de proteine recombinat purificate de Treponema pallidum marcate cu peroxidaza.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumente Chorus.

4. COMPOZITIA TRUSEI SI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 81051).

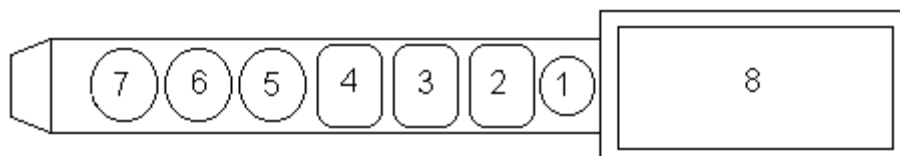
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 81051/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81051).

2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 81051/12).

Utilizare: **echilibrati un pachet la temperatura camerei**, deschideti pachetul si indepartati dispozitivele necesare, lasati-le pe celelalte in plicul cu silicagel, eliminati aerul si **sigiliati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.



Descriere:

Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea etichetei codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEU MICROPLACI captusit cu anticorpi monoclonali anti-human IgM

Pozitia 5: GODEU MICROPLACI necaptusiti

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: DILUANT PROBA

Continut: Solutie proteica cu continut de fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si un indicator care sa arate prezenta serului

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: amestec de proteine recombinante de Treponema pallidum etichetate cu HRP in tampon fosfat cu continut de fenol 0.05% si Bronidox 0.02%

Pozitia 1: GODEU GOL in care operatorul trebuie sa puna serul nediluat

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 mL

Continut: Ser uman diluat, la o concentratie cunoscuta de anticorpi, cu continut de Proclin and Gentamicina, **lichid gata preparat pentru utilizare.**

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, la o concentratie cunoscuta de anticorpi, cu continut de Proclin and Gentamicina, **lichid gata preparat pentru utilizare.**

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Apa distilata sau deionizata
- Stilarie de laborator normala: cilindrii, tuburi test- etc.
- Micropipete pentru pipetare adecvata de solutie 10, 100, 1000 µl
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de hipoclorit de sodiu (5%)
- Containere pentru colectarea potentialelor materiale infectioase

5. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie sa fie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura incorecta calibrarea trebuie repetata si circuitul validat utilizand ser control (vezi punctul 9, Validarea testului).

Data de expirare este listata pe fiecare component si pe eticheta trusei.

Reactivii au o stabilitate limitata dupa deschidere si/sau preparare

DISPOZITIV	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATOR	8 saptamani la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 saptamani la 2/8°C

6. PRECAUTII

DOAR PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Atentionare:

Aceasta trusa contine materiale de origine umana care au fost testate si au raspuns negativ la metodele FDA aprobate in ceea ce priveste prezenta anticorpilor HbsAg si a anticorpilor anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-HCV. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi o garantie completa in privinta absentei agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manipulate ca fiind potential infectioase. Toate precautiile adoptate normal in practicile de laborator trebuie respectate in momentul manipularii materialelor de origine umana. **Indepartare deseurilor:** stripurile utilizate care contin materiale de origine umana trebuie considerate materiale infectioase si aruncate doar prin respectarea reglementarilor din acest domeniu. **Indepartare deseurilor:** stripurile utilizate care contin materiale de origine umana trebuie considerate materiale infectioase si aruncate doar prin respectarea reglementarilor din acest domeniu.

Informatii privind sanatatea si siguranta

1. Nu pipetati cu gura. Purtati manusi de unica folosinta si protectie la ochi cand manipulati specimenele. Spalati mainile bine dupa ce asezati dispozitivele in instrumentul CHORUS.
2. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante nocive sau iritante:
 - a) Conjugatul contine fenol
 - b) Substratul este acid

Daca vreunul din reactivi intra in contact cu pielea sau ochii, spalati zona cu multa apa.

3. Acizii neutralizati si alte lichide reziduale trebuie decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru obtinerea unei concentratii finale de cel putin 1.0%. O expunere de 30 de minute la 1% hipoclorit de sodiu poate fi suficient pentru asigurarea unei decontaminari efective.
4. Scurgeri de materiale potential infectioase trebuie indepartate imediat cu servetele de hartie absorbanta iar zona contaminata curatata cu, de ex. 1.0% hipoclorit de sodiu, inainte de inceperea lucrului. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat pe scurgerile care contin acid decat daca zona scurgerii nu a fost mai intai uscata prin stergere. Materialele folosite pentru curatarea scurgerilor, inclusiv manusile, trebuie aruncate deoarece sunt deseuri potential infectioase. Nu autoclavati materialele care contin hipoclorit de sodiu.

Precautii analitice

Aduceti dispozitivele care vor fi folosite la temperatura camerei (18-30°C) inainte de utilizare; utilizati in timp de 60 min.

1. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. In timp de adaugati proba in godeu verificati daca este perfect distribuita pe fund.
3. Verificati prezenta reactivilor din dispozitiv si daca dispozitivul nu este deteriorat, nu utilizati dispozitive carora le lipsesc reactivii.
4. Dispozitivele se vor folosi cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie urmarite cu atentie si manualul de operare a instrumentului trebuie consultat.
5. Verificati daca instrumentul Chorus este setat in mod corect. (vezi Manualul de Operare Chorus).
6. Nu schimbati codul de bare de pe manerul dispozitivului pentru a permite citirea corecta a instrumentului.
7. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual in instrument.
8. Nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit in timpul pastrarii si utilizarii.
9. Utilizarea probelor puternic hemolizate, sau a probelor cu contaminarii microbiene, pot toate constitui surse de eroare.
10. Inainte de inserarea dispozitivelor in instrument, verificati daca godeul de reactie nu contine corpii straini.
11. Pipetati serul test (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
12. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.

7. TIPUL SI PASTRAREA PROBEI

Proba este compusa din ser colectat in maniera normala din vene si manipulat cu precizia dictate de practica de laborator. Serul proaspat poate fi pastrat pentru 4 zile la 2/8°C, sau congelat pentru mai mult timp la -20°C, si poate fi congelat-dezongelat de maximum 3 ori. Evitati folosirea frigiderelor cu auto-dezghetare pentru depozitarea probelor. Probele decongelate trebuie agitate cu atentie inainte de utilizare. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminare microbiana, care duce la rezultate eronate.

Probele puternic lipemice, icterice, hemolizate sau contaminate trebuie evitate.

Testul nu poate fi aplicat plasmei

8. PROCEDURA

1. Deschideti pachetul (pe partea care contine presiune de inchidere), indepartati numarul dispozitivelor solicitate si sigilati restul pungii dupa eliminarea aerului.
2. Verificati stadiul dispozitivelor in functie de indicatiile prezentate in avertizarile analitice, punctele 1 si 8.
3. Pipetati 50 µl de ser test nediluat in godeul no. 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare a lotului utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Puneti dispozitivele in instrumente. Efectuati calibrarea (daca este necesar) si testul conform prezentarii in Manualul de Operare Chorus

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru verificarea validitatii rezultatelor obtinute. Trebuie folosit conform Manualului de Operare. Daca instrumentul semnalizeaza ca serul de control are o valoare in afara limitei acceptabile, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus exprima rezultatele in INDEX (raport intre valoarea OD a testului proba si Cut-Off) ce pot fi utilizate ca o masura cantitativa, deoarece este proportional cu cantitatea IgM –ului prezent.

Serul test poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

NEGATIV: cand rezultatul este < 0.8

INCERT/ECHIVOC: cand rezultatul este intre 0.8 si 1.2.

POZITIV: cand rezultatul este > 1.2

In cazul rezultatelor incert/echivoc, repetati testul. Daca ramane incert/echivoc, luati o noua proba.

11. LIMITARILE PROCEDURII

Rezultatele testului trebuie interpretate in raport cu alte informatii clinice sau de laborator.

Ca si in cazul reactiilor la alte infectii IgM, un numar mic de pacienti cu sifilis pot prezenta nivele persistente scazute de IgM la T. pallidum chiar si dupa perioada maxima de 1-2 years.

In cazuri suspectarea foarte timpurie de Sifilis in care testul poate sa fie negativ, acesti pacienti trebuie retestati 1 saptamana mai tarziu.

12. SPECIFICITATE ANALITICA

S-au testat urmatoarele probe cu continut de substante potential interferente:

- Probe puternic hemolizate (n = 3)
- Factor reumatoid (pana la 1048 IU/ml) (n = 5)
- Bilirubina (pana la 11 mg/dl) (n = 5)
- Trigliceride (pana la 1281 mg/dl) (n = 4).

In niciun caz rezultatul testului IgM nu a fost influentat de tipul de proba.

13. SENSIBILITATE SI SPECIFICITATE

S-au testat 160 probe comparativ cu alta metoda imunoenzimatica. Urmatoarele rezultate au fost gasite: 109 seruri au dat rezultate negative si 49 seruri au dat rezultate pozitive cu ambele truse.

		Referinta	
		+	-
Diesse	+	49	2
	-	0	109

Trusa arata o specificitate de 100% (CI 95%: 92.7-100) si o sensibilitate de 98.2% (CI 95%: 93.7-99.5).

14. PRECIZIE

Precizie in timpul circuitului

	Nr. replici	Mean Index	St.Dev.	CV%
Lot. no. 023	10	2.7	0.12	4
Lot. no. 024	12	2.2	0.14	6
Lot. no. 025	9	2.0	0.10	5

Precizie intre circuite si precizie intre serii

Proba	Mean Index			Mean	St.Dev.	CV%
	Lot 023	Lot 024	Lot 025			
TPM 1	0.8	0.8	0.6	0.7	0.12	17
TPM 2	1.0	1.0	1.1	1.0	0.06	6
TPM 3	2.2	2.6	2.5	2.4	0.21	9

15. INDEXUL SIMBOLURILOR FOLOSITE

	Data fabricatiei
	A se folosi pana la
	A nu se refolosi
	Atentie, consultati documentele insotitoare
	Productator
	Continunt sufficient pt <n> teste
	Limita da temperatura
	Pentru utilizzare consultati instructiunile
	Risk biologic
	Numar de catalog
	Dizpositiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Lot

16. REFERINTE

- 1.G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).
- 2.S.A. Lukehart et al. Characterization of monoclonal antibodies to Treponema pallidum. J. Immunology 134: 585 (1985).
- 3.S.A. Lukehart: Identification and characterization of Treponema pallidum antigens by monoclonal antibodies. in: Monoclonal Antibodies, Academic Press 1986, p. 1.
- 4.L. Lewis et al.: Evaluation of immunoglobulin M Western blot analysis in the diagnosis of congenital syphilis. J. Clin. Microbiol. 28: 296 (1990).
- 5.M. Norgard et al.: Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of Treponema pallidum Nichols in the diagnosis of syphilis. J. Clin. Microbiol. 20: 711 (1984).
- 6.M.J. Bailey et al.: Production of murine monoclonal antibodies to the major axial filament polypeptide of Treponema pallidum. J. Gen. Microbiol. 133: 1805 (1987).



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italy
Tel.

0577-587111

	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 jusque 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 Fabbricante	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



DIESSE Diagnostica Senese
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA) Italy
Tel. 0577-587111