

CHORUS

TOXOPLASMA IgG

AVIDITY


DIESSE
DIESSE

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

REF 81098

	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	9

CE
0123



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

**Per la determinazione qualitativa dell'avidità
degli anticorpi IgG anti-Toxoplasma gondii**

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa dell'avidità degli anticorpi di classe IgG anti-Toxoplasma gondii nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Il Toxoplasma gondii è un protozoo ubiquitario capace di infettare tutte le specie di mammiferi. Nell'uomo studi sierologici indicano che una alta percentuale della popolazione adulta è stata infettata da questo parassita.

La malattia è particolarmente seria durante la gestazione in quanto viene trasmessa dalla madre al feto provocando gravi malformazioni.

Per quest'ultimo motivo è importante conoscere il titolo anticorpale prima dell'inizio della gravidanza e nei soggetti non immuni controllare con frequenti analisi se si verifica sieroconversione.

Alcune volte non basta la sola individuazione di anticorpi IgM, poiché la presenza di questi anticorpi può essere dovuta a persistenza delle IgM o reinfezione asintomatica da Toxoplasma, senza presentare rischi per il feto.

Per questo risulta utile dosare l'avidità degli anticorpi IgG in quanto è stato dimostrato che questa è bassa nella fase acuta ed aumenta con il passare del tempo.

Per questo la presenza di anticorpi IgG a bassa avidità è indice di infezione recente o in atto.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Toxoplasma IgG Avidity è pronto all'uso per la determinazione dell'avidità degli anticorpi IgG anti-Toxoplasma gondii, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Un agente dissociante provoca il distacco delle IgG umane anti-Toxoplasma gondii adese all'antigene legato alla fase solida. Questo distacco è proporzionale alla avidità; calcolando il rapporto percentuale con un riferimento non trattato, si ottiene il valore dell'avidità delle IgG.

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

I risultati sono espressi in percentuale di avidità.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

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

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

Avvertenze per la sicurezza personale

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

Avvertenze analitiche

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

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi

che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.

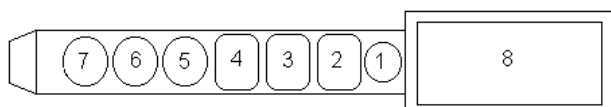
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 12 determinazioni

DD DISPOSITIVI 2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Bicchierino con Tampone Avidity

Contenuto: Urea in soluzione salina tamponata contenente fenolo (0.05%) e Bronidox (0.02%).

Posizione 6-5: Pozzetti di micropiastra sensibilizzati con antigene del Toxoplasma gondii

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CONTROL HIGH Siero di Controllo ad Alta Avidità **1 x 0.3 ml**
Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi ad alta avidità e conservante. Liquido, pronto all'uso.

SAMPLE DILUENT Diluente Campioni **1 x 1.5 ml**
Contenuto: Siero IgG negativo da impiegare come diluente dei campioni fuori range.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C
SIERO DI CONTROLLO	
AD ALTA AVIDITÀ	8 settimane a 2/8°C
DILUENTE CAMPIONI	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

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

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

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

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in percentuale di avidità.

Percentuali maggiori del 40% indicano che le IgG hanno alta avidità.

Valori inferiori al 30% indicano bassa avidità.

I valori intermedi indicano IgG a media avidità.

Lo strumento segnala NC quando le IU/mL del campione sono inferiori a 15 IU/mL.

Lo strumento segnala DIL quando le IU/mL sono superiori a 100 IU/mL; in questo caso diluire il campione (e.g. 1:5) con Sample Diluent e ripetere il test.

In caso di risultato a media avidità, ripetere il test.

In ogni caso è consigliabile ripetere il test dopo 2-3 settimane in modo da valutare la eventuale variazione della avidità.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Il test è applicabile a campioni con almeno 20 IU/ml di IgG anti-Toxoplasma e meno di 100 IU/ml.

Un risultato di alta avidità non esclude la possibilità che vi sia stata una infezione recente. Per contro, data l'alta specificità del test un risultato di bassa avidità è fortemente indicativo di una infezione entro i precedenti 3 mesi.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato

insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. CROSS-REATTIVI

6 campioni, positivi a Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps e Rubella sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

13. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 55 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		Bassa	Alta	Totale
Diesse	Bassa	11	0	11
	Alta	2	42	44
	Totale	13	42	55

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 91.6.-99.9.

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.88.

14. PRECISIONE

All'interno della seduta

	No. di repliche	Media (Avidità %)	Dev. St.	CV%
Lotto no. 021	9	57	2	4
Lotto no. 022	9	62	2	3
Lotto no. 024	9	81	6	7

Tra sedute

Campione	Avidità %			Media	Dev. St.	CV%
	Lotto 021	Lotto 022	Lotto 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. BIBLIOGRAFIA

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

**For the qualitative determination of the avidity of
IgG antibodies anti-Toxoplasma gondii**

For In Vitro Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of the avidity of IgG class antibodies against *Toxoplasma gondii* in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Toxoplasma gondii is a ubiquitous protozoa which causes infection in all species of mammals. In man, serological studies have shown that a high percentage of the adult population becomes infected by this parasite. The disease is particularly dangerous during pregnancy, being transmitted from mother to fetus and causing serious malformations.

For this reason it is important to determine the antibody titer before the beginning of pregnancy if possible; those subjects who do not present immunity should be followed up with frequent analyses to check for serum conversion.

Sometimes it is not sufficient to test for IgM antibodies, as the presence of this class may be due to the persistence of IgM or asymptomatic reinfection by *Toxoplasma*, without risk for the fetus.

For this reason it is useful to assay the avidity of the IgG antibodies, in as far as it has been demonstrated that avidity is low in the acute phase of infection and increases over a period of time. The presence of low avidity antibodies is therefore an indication of a recent or current infection. The avidity of IgG antibodies in the serum can be assayed with this kit on the CHORUS instrument.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Toxoplasma IgG Avidity device is ready to use for the detection of the avidity of IgG antibodies against *Toxoplasma gondii*, in the Chorus/Chorus TRIO instruments. The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay).

A dissociating agent causes the detachment of human anti-Toxoplasma IgG which are adhered to the antigen bound on the solid phase. This detachment is proportional to the avidity; the percentual ratio is calculated compared to a non treated well, and the avidity value of the IgG is obtained.

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

The results are expressed in percentage of avidity.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

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

followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.

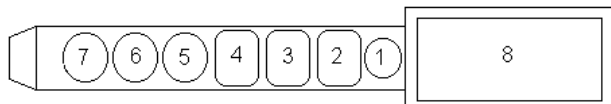
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes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

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 12 tests.

DD DEVICES 2 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Avidity Buffer

Contents: Urea in saline buffer solution containing phenol (0.05%) and Bronidox (0.02%)

Position 6-5: MICROPLATE WELLS

Coated with Toxoplasma gondii antigen

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 indicator to reveal the presence of the serum.

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

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

CONTROL HIGH High Avidity Control Serum 1 x 0.3 ml

Contents: Diluted human serum, containing high avidity antibodies and preservative. Liquid ready for use.

SAMPLE DILUENT Sample Diluent 1 x 1.5 ml

Contents: IgG negative serum to be used as sample diluent for those which give a result over range.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2/8°C
HIGH AVIDITY	8 weeks at 2/8°C
CONTROL SERUM	8 weeks at 2/8°C
SAMPLE DILUENT	8 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

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

4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in percentage of avidity.

A percentage higher than 40% indicates that the IgG have high avidity.

Values below 30% indicate low avidity.

Intermediate values indicate medium avidity IgG.

When the sign NC appears on the instrument the IU/ml of the sample are below 15 IU/ml.

When the sign DIL appears on the instrument the IU/ml are over 100 IU/ml; in this case dilute the sample (e.g. 1:5) in Sample Diluent and repeat the test.

Repeat the test in case of a medium avidity result.

It is advisable to repeat the test after 2-3 weeks, in order to evaluate a possible variation of percentage of avidity.

11. LIMITATIONS

The test is applicable to samples containing at least 20 IU/ml of IgG anti-Toxoplasma and less than 100 IU/ml.

A result showing high avidity does not exclude the possibility that there has been a recent infection. On the other hand, given the high specificity of the test, a low avidity result is highly indicative of an infection during the previous 3 months.

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

12. CROSS-REACTIONS

6 samples, positive to Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps and Rubella were tested.

No significant cross-reactions were found.

13. METHOD COMPARISON

In an experimentation 55 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		Low	High	Total
Diesse	Low	11	0	11
	High	2	42	44
	Total	13	42	55

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI_{95%}: 91.6-99.9

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.88.

14. PRECISION

Within-run Precision

	No. of replicates	Mean (Avidity %)	St. Dev.	CV%
Lot no. 021	9	57	2	4
Lot no. 022	9	62	2	3
Lot no. 024	9	81	6	7

Between-run precision

Sample	Avidity %			Mean	St. Dev.	CV%
	Lot 021	Lot 022	Lot 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. REFERENCES

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy



0123



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

PRO kvalitativní STANOVENÍ avidity protilátek třídy IgG proti Toxoplasma gondii

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k kvalitativnímu avidity protilátek třídy IgG proti Toxoplasma gondii v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Toxoplasma gondii je všudypřítomný prvek působící infekci u všech druhů savců. Pokud jde o člověka, sérologické studie ukázaly, že vysoké procento dospělé populace se tímto parazitem nakazí. Toto onemocnění je zvláště nebezpečné během těhotenství, protože se přenáší z matky na plod, u kterého způsobuje vážné malformace.

Proto je důležité stanovit titr protilátek ještě před začátkem těhotenství, je-li to možné. Subjekty nevykazující imunitu je třeba sledovat častými analýzami a kontrolovat konverzi séra.

Někdy test na IgM protilátky nestačí, protože přítomnost této třídy může být způsobena persistencí IgM nebo asymptomatickou reinfekcí Toxoplasmou, které nepředstavují pro plod riziko.

Proto je užitečné provést zkoušku na aviditu IgG protilátek; bylo dokázáno, že avidita je nízká v akutní fázi infekce a s časem narůstá. Přítomnost protilátek nízké avidity je tak známkou nedávné či právě probíhající infekce. Aviditu IgG protilátek v séru lze zjistit pomocí této soupravy za použití zařízení CHORUS.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus Toxoplasma IgG Avidity je připraven k použití pro zkoušku avidity na IgG protilátky proti Toxoplasma gondii, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška).

Pomocí separačního agens dochází k oddělení lidských anti-Toxoplasma IgG, které jsou vázány na antigen vázaný na pevné fázi. Toto odloučení je úměrné aviditě; procentuální poměr se vypočítá porovnáním s neošetřenou jamkou, a získá se tak hodnota avidity IgG protilátek.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako procento avidity.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou 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 vzorky sér, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
10. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve ořtením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného 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. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.

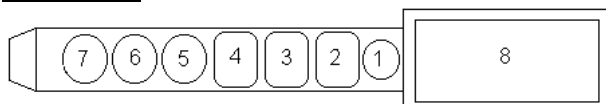
16. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
17. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
18. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
19. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
20. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
21. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
22. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonalé koagulované séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
23. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
24. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 12 stanovení.

DD NÁSTROJE 2 balení po 6 nástrojích

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: Avidity pufr

Obsah: močovina v roztoku solného pufru s obsahem fenolu (0.05 %) a Bronidoxu (0.02 %).

Pozice 6-5: Titrační jamky potažené Toxoplasma gondii.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Bílkovinný roztok obsahující 0.05% fenol, 0.02% Bronidox a indikátor ukazující na přítomnost séra.

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: Antilidské monoklonální IgG protilátky značené křenovou peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěné sérum.

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

CONTROL HIGH Vysokoaviditní Kontrolní Sérum 1 x 0.3 ml

Složení: Naředěné lidské sérum obsahující IgG vysoké avidity, a konzervační prostředek. Tekutina připravena k použití.

SAMPLE DILUENT Ředidlo Vzorku 1 x 1.5 ml

Složení: Sérum negativní na IgG; určené pro ředění vzorků, jejichž výsledky přesahují rozmezí.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
KONTROLNÍ SÉRUM	
S VYSOKOU	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
AVIDITOU	
ŘEDIDLO VZORKU	8 týdnů při teplotě 2–8 °C

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

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

Rozmrazovat se smí maximálně 3 krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům.

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

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje.

4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO. Proveďte test podle příručky k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, test je třeba opakovat. 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/Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v procentu avidity.

Procento > 40 % indikuje, že IgG má vysokou aviditu. Hodnoty pohybující se pod 30 % ukazují na aviditu nízkou. Střední hodnoty indikují střední aviditu.

Objeví-li se na zařízení značka NC, jsou IU/mL vzorku nižší než 15 IU/mL.

Když se objeví značka DIL, přesahují IU/ml hodnotu 100 IU/ml; v tomto případě ředte vzorek (e.g. 1:5) ve Sample Diluent a test opakujte.

Vyjde-li výsledná avidita střední, test opakujte. Doporučujeme test opakovat po 2-3 týdnech, aby bylo možné vyhodnotit možný rozdíl v procentu avidity.

11. OMEZENÍ

Test je dovoleno použít pouze pro vzorky obsahující alespoň 20 IU/ml IgG anti-Toxoplasma a méně než 100 IU/ml.

Výsledek ukazující vysokou aviditu nevyklučuje možnost, že se jedná o nedávnou infekci. Na druhou stranu, vezmeme-li v úvahu vysokou specifitu tohoto testu, naznačuje nízká avidita jasně infekci získanou v průběhu 3 předešlých měsíců.

Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Byly testovány 6 vzorky pozitivní na Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps a Rubella.

NEBYLY ZJISTENY ŽADNÉ VÝZNAMNÉ ZKŘÍŽENÉ REAKCE.

13. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 55 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		Nízká	Vysoká	Celkem
Diesse	Nízká	11	0	11
	Vysoká	2	42	44
	Celkem	13	42	55

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Negativní shoda v procentech: (~ diagnostická specifita):

100% CI_{95%}: 91.6.-99.9.

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s Cohenovou Kappa dosahující 0.88.

14. PŘESNOST

Přesnost v rámci měření

	Počet replikátů	Průměr (Avidita %)	Stand. odchylka	CV%
Šarže č. 021	9	57	2	4
Šarže č. 022	9	62	2	3
Šarže č. 024	9	81	6	7

Přesnost mezi měřeními

Vzorek	Avidita %			Průměr	Stand. odchylka	CV %
	Šarže č. 021	Šarže č. 022	Šarže č. 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. REFERENČNÍ LITERATURA

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSÉ Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

Zur qualitativen Bestimmung der avidität der anti-Toxoplasma Gondii-IgG-Antikörper

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

16. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung der avidität der anti-Toxoplasma Gondii-IgG-Antikörper im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

17. EINLEITUNG

Toxoplasma gondii ist ein ubiquitäres Protozoon, das sämtliche Säugetierarten infizieren kann. Beim Menschen zeigen serologische Studien, dass ein hoher Prozentsatz der erwachsenen Bevölkerung mit dem Parasiten infiziert worden ist.

Die Krankheit ist während der Schwangerschaft sehr ernst, weil sie von der Mutter auf den Fetus übertragen wird und schwere Missbildungen verursacht.

Aus diesem Grund ist es wichtig, die Bestimmung der Antikörper vor Schwangerschaftsbeginn vorzunehmen und bei nicht immunen Frauen durch häufige Analysen zu kontrollieren, ob eine Serokonversion auftritt.

Manchmal reicht der Nachweis der IgM-Antikörper allein nicht aus, denn die Präsenz dieser Antikörper kann durch die Persistenz der IgM-Antikörper oder durch eine asymptomatische Toxoplasma-Reinfektion bedingt sein, ohne ein Risiko für den Fetus darzustellen.

Deshalb ist es sinnvoll, die Avidität der IgG-Antikörper zu bestimmen, da gezeigt wurde, dass diese während der akuten Phase niedrig ist und im Laufe der Zeit ansteigt.

Daher ist die Präsenz von IgG-Antikörpern mit niedriger Avidität ein Hinweis auf eine kürzlich erfolgte oder aktuelle Infektion.

18. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Toxoplasma IgG Avidity ist gebrauchsfertig für die Bestimmung der avidität von Anti-Toxoplasma gondii Antikörpern der Klasse IgG in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Ein dissoziierendes Agens bewirkt die Ablösung der Anti-human-Toxoplasma gondii-IgG-Antikörper, die an dem an die

Festphase gebundenen Antigen anhaften. Diese Ablösung ist proportional zur Avidität; berechnet man das prozentuelle Verhältnis zu einer nicht behandelten Referenz, erhält man den Wert der IgG-Avidität.

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

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als die Avidität der Proben in Prozenten.

19. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO- DIAGNOSTIK BESTIMMT.

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

Entsorgung der Abfälle: Die 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

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
10. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
11. 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.
12. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der

Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden.

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

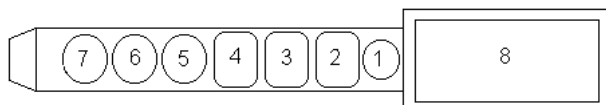
13. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
14. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
15. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
16. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
17. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
18. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
19. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
20. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
21. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
22. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koagulierte Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
23. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
24. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

20. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 2 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Becher mit Aviditätspuffer

Inhalt: Harnstoff in gepufferter Kochsalzlösung mit Phenol (0.05 %) und Bronidox (0.02 %), gebrauchsfertig.

Position 6-5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

die mit Toxoplasma gondii sensibilisiert wurden

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

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

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

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

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte monoklonale Anti-human-IgG Antikörper in Phosphatpufferlösung mit 0.05 % Phenol und 0.02 % Bronidox

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen

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

CONTROL HIGH Kontrollserum mit hoher Avidität 1 x 0.3 ml
Inhalt: verdünntes Humanserum mit Antikörpern hoher Avidität und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig

SAMPLE DILUENT Probenverdünnungsmittel 1 x 1.5 ml
Inhalt: IgG-negatives Serum, das als Verdünnungsmittel für Proben außerhalb des vorgeschriebenen Bereichs verwendet wird.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

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

21. 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 jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

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

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KONTROLLSERUM MIT HOHER AVIDITÄT	8 Wochen bei 2–8 °C
PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL	8 Wochen bei 2–8 °C

22. 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.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

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

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

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

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

23. VORGEHENSWEISE

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

24. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses das positive 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 der Test wiederholt werden.

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

25. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert die Avidität der Proben in Prozenten.

Prozentwerte über 40 % zeigen an, dass die IgG-Antikörper eine hohe Avidität besitzen.

Die Werte unter 30 % auf eine niedrige Avidität hinweisen.

Die Werte dazwischen weisen auf eine mittlere IgG-Avidität hin.

Der Laboranalysator zeigt NC an, wenn die IU/ml der Probe weniger als 15 IU/ml betragen.

Der Laboranalysator zeigt DIL an, wenn die IU/ml mehr als 100 IU/ml betragen; in diesem Fall die Probe mit Sample Diluent (Probenverdünnungsmedium) verdünnen (z.B. 1:5) und den Test wiederholen.

Sollte der Test eine mittlere Avidität ergeben, wird er wiederholt.

In jedem Fall wird empfohlen, den Test nach 2–3 Wochen zu wiederholen, um eine evtl. Änderung der Avidität beurteilen zu können.

26. GRENZEN DES TESTS

Der Test ist bei Proben mit mindestens 20 IU/ml und weniger als 100 IU/ml Anti-Toxoplasma-IgG-Antikörpern anwendbar.

Ein Ergebnis hoher Avidität schließt die Möglichkeit einer kürzlich erfolgten Infektion nicht aus. Andererseits ist das Ergebnis einer niedrigen Avidität aufgrund der hohen Spezifität des Tests ein starker Hinweis auf eine Infektion, die innerhalb der vergangenen 3 Monate erworben wurde.

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

27. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 6 positive Proben Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps e Rubella getestet.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

28. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 55 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		Niedrig	Hoch	Insgesamt
Diesse	Niedrig	11	0	11
	Hoch	2	42	44
	Insgesamt	13	42	55

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):
86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Negative Übereinstimmung: (~Diagnostische Sensitivität):
100% CI_{95%}: 91.6.-99.9.

Cohens Kappa: 0.88.

29. PRÄZISION

Innerhalb eines Durchlaufs

	Anzahl der Parallelproben	Mittelwert (Avidität %)	St.-Testm.	CV%
Chargennr. 021	9	57	2	4
Chargennr. 022	9	62	2	3
Chargennr. 024	9	81	6	7

Zwischen Durchläufen

Probe	Avidität %			Mittelwert	St.-Testm.	CV %
	Chargennr. 021	Chargennr. 022	Chargennr. 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

30. LITERATUR

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό της “avidity” των
αντισωμάτων IgG κατά του Τοξοπλάσματος
gondii**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό της “avidity” των αντισωμάτων IgG κατά του Τοξοπλάσματος gondii στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το τοξόπλασμα gondii είναι ένα πρωτόζωο ευρέως διαδεδομένο, ικανό να προκαλέσει λοίμωξη σε όλα τα είδη των θηλαστικών. Ορολογικές μελέτες απόδειξαν ότι στον άνθρωπο, ένα υψηλό ποσοστό του ενήλικου πληθυσμού έχει προσβληθεί από αυτό τον παρασιτικό οργανισμό.

Η νόσος είναι ιδιαίτερα επιβλαβής κατά την εγκυμοσύνη επειδή μεταδίδεται από την μητέρα στο έμβρυο και μπορεί να προκαλέσει ατελείς διαπλάσεις βαριάς μορφής.

Γι' αυτό τον τελευταίο λόγο έχει μεγάλη σημασία να είναι γνωστή η συγκέντρωση των αντισωμάτων πριν από την εγκυμοσύνη και, στα άτομα εκείνα που δεν παρουσιάζουν ανοσία, να γίνονται συχνές αναλύσεις αν παρουσιαστεί ορομετατροπή.

Σε μερικές περιπτώσεις μόνη η ανίχνευση των αντισωμάτων IgM, δεν είναι αρκετή επειδή η παρουσία αυτών των αντισωμάτων μπορεί να οφείλεται σε παραμένοντα IgM ή σε ασυμπτωματική επαναλοίμωξη από Τοξόπλασμα, χωρίς να υπάρχει κίνδυνος για το έμβρυο.

Γι' αυτό έχει σημασία ο προσδιορισμός του βαθμού της “avidity” των IgG επειδή έχει αποδειχθεί ότι αυτή είναι χαμηλή κατά την οξεία φάση και αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου. Έχει αποδειχθεί ότι η παρουσία αντισωμάτων IgG με χαμηλή “avidity”, είναι ένδειξη λοίμωξης, πρόσφατης ή σε εξέλιξη.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus Toxoplasma IgG Avidity είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό της “avidity” των αντισωμάτων IgG αντι- Τοξόπλασμα gondii, στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Ένας αποκολλητικός παράγοντας προκαλεί την αποκόλληση των ανθρώπινων IgG αντι- τοξόπλασμα, που είναι συνδεδεμένα με τη στερεά φάση. Αυτή η αποκόλληση είναι ανάλογη του βαθμού “avidity”. Υπολογίζοντας την ποσοστιαία σχέση με ένα σημείο αναφοράς, που δεν έχει υποστεί επεξεργασία, βρίσκουμε την τιμή της “avidity” των IgG.

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

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με ποσοστό της “avidity”.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

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

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

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

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

Αναλυτικές οδηγίες

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

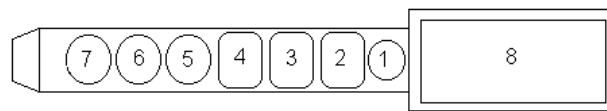
1. Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ιδίου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυπαιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
12. Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ 2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: κυψελίδα με buffer Avidity

Περιεχόμενο: Ουρία σε ρυθμιστικό διάλυμα άλατος που περιέχει φαινόλη (0.05%) και Bronidox (0.02%).

Θέση 6-5: Κυψελίδες μικροπλακιδίου ευαισθητοποιημένες με Τοξοπλάσματος gondii

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

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

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

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

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgG μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Σε αυτή την κυψελίδα ο χρήστης πρέπει να βάλει τον μη διαλυμένο ορό.

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

CONTROL HIGH Ελεγχος Υψηλής "Avidity" 1 x 0.3 ml

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός τίτλου σε αντισώματα υψηλής "avidity" και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

SAMPLE DILUENT Διαλυτής Δειγμάτων 1 x 1.5 ml

Περιεχόμενο: Ορός αρνητικός για IgG προς χρήση ως διαλύτης των δειγμάτων εκτός εύρους.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

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

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

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

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

ΣΕΤ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΕΛΕΓΧΟΣ ΥΨΗΛΗΣ "AVIDITY"	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	8 εβδομάδες στους 2/8°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος δείγματος αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.

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

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C; για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C.

Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές.

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

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

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

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξετε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Βάλτε στην κυψελίδα αρ. 1 του κάθε σετ, 50 μl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήστη της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό θετικού ελέγχου για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. Αν η συσκευή επισημαίνει ό,τι ο ορός ελέγχου έχει τιμή έξω

από το όριο ανεκτής διακυμάνσεως, πρέπει να κάνετε και πάλι τα τεστ.

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 ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε ποσοστό της "avidity".

Ποσοστό μεγαλύτερο του 40% είναι δείκτης IgG με υψηλή "avidity".

Ποσοστό χαμηλότερο με 30% είναι δείκτης χαμηλής "avidity". Οι ενδιάμεσες τιμές είναι δείκτης IgG με μία μέση "avidity".

Η συσκευή επισημαίνει NC όταν οι μονάδες IU/ml του δείγματος είναι χαμηλότερες των 15 IU/ml.

Το όργανο δείχνει DIL όταν οι IU/ml είναι πάνω από 100 IU/mL. Σε αυτή την περίπτωση, αραιώστε το δείγμα (e.g. 1:5) με το Sample Diluent και επαναλάβετε το τεστ.

Αν το αποτέλεσμα δείχνει μέτρια ισχύ σύνδεσης αντισώματος-αντιγόνου (avidity), επαναλάβετε την εξέταση.

Σε κάθε περίπτωση, συνιστούμε να επαναλαμβάνεται η εξέταση μετά από 2-3 εβδομάδες, ώστε να αξιολογείται τυχόν μεταβολή της ισχύος σύνδεσης αντισώματος-αντιγόνου.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η εξέταση είναι εφαρμόσιμη σε δείγματα με τουλάχιστον 20 IU/ml IgG anti-Toxoplasma (αντισώματα IgG κατά του τοξοπλάσματος) και λιγότερο από 100 IU/ml.

Μία υψηλή τιμή της "avidity" δεν αποκλείει την πιθανότητα ό,τι υπήρξε μία πρόσφατη λοίμωξη.

Αντίθετα, λόγω της υψηλής ειδικότητας του τεστ, ένα αποτέλεσμα που χαρακτηρίζεται από μία χαμηλή avidity, είναι ισχυρή ένδειξη ότι υπήρξε μία λοίμωξη μέσα στο διάστημα των τριών τελευταίων μηνών.

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

12. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 6 δείγματα, θετικά σε Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps και Rubella. Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

13. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 55 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		Χαμηλή	Υψηλή	Σύνολο
Diesse	Χαμηλή	11	0	11
	Υψηλή	2	42	44
	Σύνολο	13	42	55

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100% CI_{95%}: 91.6.-99.9.

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (σταθερά του Cohen) 0.88.

14. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Κατά την διαδικασία

	Αριθμός επαναλήψεων	Μέση Τιμή (Avidity%)	Τυπική Απόκλιση	CV%
Παρτίδα no. 021	9	57	2	4
Παρτίδα no. 022	9	62	2	3
Παρτίδα no. 024	9	81	6	7

Μεταξύ διαδικασιών

Δείγμα	Avidity %			Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	CV%
	Παρτίδα 021	Παρτίδα 022	Παρτίδα 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei laghi 39
 53035 Monteriggioni (Siena)
 Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

Para la determinación cualitativa de la avidéz de los anticuerpos IgG anti-Toxoplasma gondii

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

El Toxoplasma gondii es un organismo unicelular eucariota del grupo de los Esporozoos que causa infecciones en todas las especies de mamíferos. Estudios serológicos han mostrado que en los seres humanos un elevado porcentaje de la población adulta ha sido infectada por este parásito. La enfermedad es particularmente grave durante el embarazo, siendo transmitida por la madre al feto causando graves malformaciones.

A veces la determinación de anticuerpos IgM no es suficiente, ya que la presencia de dichos anticuerpos puede ser debida a persistencia de las IgM o a una reinfección asintomática por Toxoplasma, sin riesgo para el feto.

Por esta razón es importante la titulación de los anticuerpos IgG por avidéz ya que se ha demostrado que ésta es baja en la fase aguda y aumenta con el tiempo. Se ha demostrado que una baja titulación de anticuerpos IgG por avidéz es indicativo de infección reciente o actual.

Por esta razón es importante realizar el ensayo de avidéz de los anticuerpos de IgG ya que se ha demostrado que ésta es baja en la fase aguda y aumenta con el tiempo. Un bajo porcentaje de avidéz de los anticuerpos IgG es indicativo de infección reciente o infección actual.

Los dispositivos de un solo uso contienen todos los reactivos necesarios para ejecutar la prueba cuando se aplican al equipo Chorus.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Toxoplasma IgG Avidity está listo para su uso para la determinación de la avidéz de los anticuerpos IgG anti-Toxoplasma gondii, en los equipos Chorus/Chorus TRIO. El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Un agente desasociante provoca la separación de las IgG anti-Toxoplasma gondii humanas adheridas al antígeno unido a la fase sólida. Esta separación es proporcional al grado de

avidéz; el porcentaje del valor de la avidéz de las IgG se calcula frente a otro pocillo no tratado.

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

El resultado se expresa en porcentaje de avidéz.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertencias para la seguridad personal

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

Precauciones analíticas

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

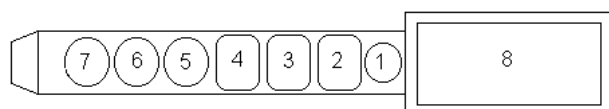
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 12 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 2 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: Envase con tampón avidity

Contenido: Urea en solución salina tamponada con fenol (0.05%) y Bronidox (0.02%).

Posición 6-5: pocillos de microplaca sensibilizados con antígenos de Toxoplasma gondii

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CONTROL HIGH Suero de Control a Alta Avidéz 1 x 0.3 ml

Contenido: Suero humano diluido con anticuerpos a alta avidéz y conservante. Líquido, listo para su uso.

SAMPLE DILUENT Diluyente Muestras 1 x 1.5 ml

Contenido: Suero negativo IgG, que se utiliza como diluyente de las muestras fuera de rango.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
SUERO DE CONTROL ALTA AVIDEZ	8 semanas a 2/8°C
DILUYENTE MUESTRAS	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

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

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

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

La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces.

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

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

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO expresa el resultado en porcentaje de avidéz.

Porcentajes mayores del 40% indican que las IgG tienen avidéz alta.

Valores inferiores al 30% indican baja avidéz.

Los valores intermedios indican IgG a media avidéz.

El equipo indica NC cuando las IU/ml de la muestra son inferiores a 15 IU/ml.

El equipo indica DIL cuando las IU/mL son mayores de 100 IU/ml; en este caso, diluir la muestra (e.g. 1:5) con Sample Diluent y repetir la prueba.

Repetir la prueba en el caso de un resultado de media avidéz. En cualquier caso se aconseja repetir la prueba después de 2-3 semanas, con el fin de evaluar la eventual variación de la avidéz.

11. LIMITACIONES

El test es aplicable a muestras con 20 IU/mL de IgG anti-Toxoplasma por lo menos y menos de 100 IU/mL.

Un resultado de avidéz alta no excluye la posibilidad que haya habido una infección recién. Al revés, dada la alta especificidad del test, una avidéz baja es fuertemente indicativa de una infección durante los 3 meses precedentes.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. REACCIONES CRUZADAS

6 muestras, positivas en Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps y Rubella fueron testadas.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

13. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 55 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		Baja	Alta	Total
Diesse	Baja	11	0	11
	Alta	2	42	44
	Total	13	42	55

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 91.6-99.9

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (constante de Cohen) de 0.88.

14. PRECISIÓN

Intra-Ensayo

	Número de réplicas	Media (Avidéz %)	Desv. Estándar	CV%
Lot no. 021	9	57	2	4
Lot no. 022	9	62	2	3
Lot no. 024	9	81	6	7

Entre Ensayos

Muestra	Avidéz %			Media	Desv. Estándar	CV%
	Lot 021	Lot 022	Lot 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. BIBLIOGRAFÍA

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

Pour la détermination qualitative de l'avidité des anticorps IgG anti-Toxoplasma gondii

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination de l'avidité des anticorps IgG anti-Toxoplasma gondii dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

Le Toxoplasma gondii est un protozoaire ubiquiste qui a la capacité d'infecter toutes les espèces mammifères. Chez l'homme, les études sérologiques ont démontré qu'une grande proportion de la population adulte a été infectée par ce parasite. La maladie peut être grave, particulièrement chez les patientes immunodéprimées pendant la grossesse, puisque le parasite peut être transmis de la mère au fœtus. Pour ce motif il est très important de connaître le titre d'anticorps au début de la gestation pour pouvoir contrôler souvent si le sérum-conversion se produit chez les patientes sans immunité.

Quelquefois il ne suffit pas révéler des anticorps IgM, puisque leur présence peut être causée par la persistance de cette classe ou la réinfection par Toxoplasme sans symptômes, sans aucun risque pour le fœtus.

Pour cette raison il est utile doser l'avidité des anticorps IgG puisqu'on a démontré que cette valeur est basse pendant la phase aiguë et il augmente en temps.

Donc la présence des anticorps à basse avidité est indice d'une infection récente ou en cours.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Toxoplasma IgG Avidity est prêt à l'usage pour la détermination de l'avidité des anticorps IgG anti-Toxoplasma gondii, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Un agent dissociant provoque la séparation des IgG humaines anti-Toxoplasma gondii adhérentes à l'antigène lié à la phase solide. Cette séparation est proportionnelle à l'avidité; en calculant le rapport en pour-cent avec une référence non traitée on obtient la valeur de l'avidité des IgG.

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

Le résultat est exprimé en pour-cent d'avidité.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

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

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

Avertissements pour la sécurité personnelle

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

Précautions analytiques

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

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

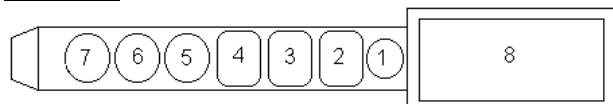
26. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
27. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
28. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
29. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
30. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
31. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
32. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
33. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
34. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum non complètement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
35. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
36. **Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations.

DD DISPOSITIFS 2 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description:



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

Position 7 : Puit contenant le tampon d'avidité

Contenu: Urea en solution saline tamponnée contenant phénol (0.05%) et Bronidox (0.02%).

Position 6-5 : Puits de la microplaque sensibilisé avec Toxoplasma gondii.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

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

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu: Solution protéique contenant 0.05% de phénol et 0.02% de Bronidox et un indicateur pour révéler la présence du sérum.

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu: anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol 0.05% et du Bronidox 0.02%.

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

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

CONTROL HIGH Serum de Controle a Haute Avidité
1 x 0.3 ml

Contenu: Sérum humain dilué contenant anticorps a haute avidité et un agent conservateur. Liquide prêt à l'usage.

SAMPLE DILUENT Diluant Enchantillons 1 x 1.5 ml

Contenu: Sérum négatif IgG employé comme diluant des échantillons hors d'échelle.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

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

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

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

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
SERUM DE CONTROLE A HAUTE AVIDITE	8 semaines à 2/8 °C
DILUANT ENCHANTILLONS	8 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

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

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

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

L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations.

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

La non-activation à la chaleur peut provoquer des résultats erronés.

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

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits n°. 1 de chaque dispositif à analyser.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le test.

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. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en pour-cent d'avidité.

Un pour-cent supérieur à 40% indique que les IgG ont une haute avidité.

Valeurs < 30% indiquent une basse avidité.

Les valeurs intermédiaires indiquent la présence des IgG à moyenne avidité.

L'instrument indique NC quand les IU/ml de l'échantillon sont inférieures à 15 IU/ml.

L'instrument indique DIL quand les IU/ml sont supérieures à 100 IU/ml; en ce cas il faut diluer le sérum (e.g. 1:5) avec le Sample Diluent et répéter le test.

Répéter le test si le résultat est une avidité moyenne.

Dans tous les cas, il est conseillé de répéter le test au bout de 2 à 3 semaines afin d'évaluer toute éventuelle variation de l'avidité.

11. LIMITES DU TEST

Le test est applicable aux échantillons qui contiennent au moins 20 IU/ml d'IgG anti-Toxoplasma et moins de 100 IU/ml.

Un résultat de haute avidité n'exclue pas la possibilité d'une infection récente. Par contre, puisque le test est très spécifique, une basse avidité indique fortement une infection entre les trois mois précédents.

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

12. RÉACTIONS CROISÉES

6 échantillons positifs aux Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps et Rubella ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

13. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 55 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

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

		Référence		
		Basse	Haute	Total
	Diesse	11	0	11
	Basse	11	0	11
	Haute	2	42	44
	Total	13	42	55

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 91.6.-99.9

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.88.

14. PRÉCISION

Intra-Séance

	Nombre de répliques	Moyenne (Avidité %)	S.D.	CV%
Lot no. 021	9	57	2	4
Lot no. 022	9	62	2	3
Lot no. 024	9	81	6	7

Inter-Séances

Échantillon	Avidité %			Moyenne	S.D.	CV%
	Lot 021	Lot 022	Lot 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. BIBLIOGRAPHIE

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

Para a determinação qualitativa de avidéz dos anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa de avidéz dos anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O Toxoplasma gondii é um protozoário parasita que infecta todas as espécies de mamíferos. Estudos sorológicos mostram uma alta percentagem de homens adultos infectados para este parasita.

A doença é muito severa durante a gravidez, porque é transmitida da mãe para o feto e pode causar graves malformações.

Por este motivo é muito importante conhecer o título dos anticorpos ao início da gravidez, e nas pessoas não imunes precisa fazer análises freqüentes para verificar se acontece a soroconversão.

Alguma vezes não é suficiente detectar as IgM, sendo que a presença desta classe de anticorpos pode depender da persistência das IgM ou de reinfecção assintomática do Toxoplasma, sem risco para o feto.

Por este motivo é útil testar a avidéz dos anticorpos IgG, sendo demonstrado que a avidéz é baixa na fase agudada infecção e aumenta no tempo. Portanto a presença de anticorpos de baixa avidéz é indicativo de infecção recente ou em progresso. A avidéz de anticorpos IgG em soro pode ser avaliada com kit ELISA.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Toxoplasma IgG Avidity está pronto para ser utilizado na determinação de avidéz dos anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

O reagente dissociante causa a dissociação das IgG humanas anti-Toxoplasma ligadas ao antígeno na fase sólida. A dissociação é inversamente proporcional com a avidéz; a

relação percentual é computada usando uma cavidade não tratada e se determina o valor de avidéz das IgG.

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

O resultado é expresso em percentagem de avidéz.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

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

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

Advertências para a segurança individual

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

Advertências analíticas

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

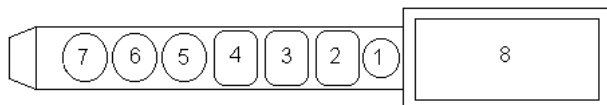
1. Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, apresentem corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, lipêmicas, ictericas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
12. Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 12 determinações

DD DISPOSITIVOS 2 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: Tampão Avidex

Conteúdo: uréia em solução salina tamponada, contendo fenol (0.05%) e Bronidox (0.02%) .

Posição 6-5: POÇOS DE MICROPLACA sensibilizados com o *Toxoplasma gondii*.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica, com fenol 0.05%, Bronidox 0.02% e um indicador para detectar a presença de soro.

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar o soro não diluído.

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

CONTROL HIGH Soro de Controlo de Alta Avidex 1 x 0.3 ml

Conteúdo: soro humano diluído contendo anticorpos de alta avidex e conservante. Líquido, pronto a usar.

SAMPLE DILUENT Diluente Amostras 1 x 1.5 ml

Conteúdo: Soro negativo IgG que pode ser usado como diluente de amostras fora do intervalo.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS:

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

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

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

DISPOSITIVOS	8 semanas entre 2 e 8°C
SORO DE CONTROLE	
DE ALTA AVIDEX	8 semanas entre 2 e 8°C

DILUENTE AMOSTRAS 8 semanas entre 2 e 8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

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

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

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

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes.

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

A inativação de calor pode levar a resultados errados. A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 50 µl de soro não diluído a testar.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações no Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário realizar o teste uma outra vez.

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

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em percentagem de avidéz.

Uma percentagem acima de 40% indica que as IgG são de alta avidéz. Valores abaixo à 30% indicam baixa avidéz.

Valores intermediários indicam avidéz média.

Quando o sinal NC aparece no equipamento, as IU/ml são menores de 15 IU/ml.

Quando o sinal DIL aparece no equipamento, as IU/ml são maiores de 100 IU/ml; neste caso, diluir a amostra (e.g. 1:5) com Sample Diluent e testar uma outra vez.

Se o resultado for de avidéz média, repita o teste.

Em todo o caso, é aconselhável repetir o teste ao fim de 2-3 semanas para aferir a eventual variação da avidéz.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

O teste é aplicable às amostras com 20 IU/ml de IgG anti-Toxoplasma ao menos e menos de 100 IU/ml.

Resultados de alta avidéz não excluem a possibilidade de uma infecção recente. Pelo contrário, dado que o teste tem alta especificidade, uma avidéz baixa é fortemente significativo de infecção nos três meses anteriores.

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

12. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 6 amostras, positivas em Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps e Rubella.

Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

13. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 55 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

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

		Referência		
		Baixa	Alta	Total
	Diesse	11	0	11
	Baixa	2	42	44
	Alta	13	42	55
	Total			

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica): 86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica): 100% CI_{95%}: 91.6-99.9

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Constante de Cohen) de 0.88.

14. PRECISÃO

No Ensaio

	Número de repetições	Média Avidéz %	D. P.	CV%
Lot no. 021	9	57	2	4
Lot no. 022	9	62	2	3
Lot no. 024	9	81	6	7

Entre Ensaios

Amostra	Avidéz %			Média	D. P.	CV%
	Lot 021	Lot 022	Lot 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9

TAV 3	11	14	11	12	2	17
-------	----	----	----	----	---	----

15. BIBLIOGRAFIA

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS TOXOPLASMA IgG AVIDITY

Pentru determinarea calitativa de aviditate a anticorpilor IgG anti-Toxoplasma gondii

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea calitativa de aviditate a anticorpilor IgG anti-Toxoplasma gondii in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Toxoplasma gondii este un protozoar obisnuit care cauzeaza infectia la toate speciile de mamifere. La om, studiile serologice au aratat ca un procentaj crescut din populatia adulta s-a infectat de acest parazit. Boala este deosebit de periculoasa in special in sarcina, fiind transmisa de la mama la fetus si cauzand malformatii serioase.

Din acest motiv este important sa se determine titrul anticorpului inainte de inceperea sarcinii daca este posibil; acei pacienti care nu au imunitate trebuie urmariti cu analize frecvente pentru verificarea seroconversiei.

Uneori nu este suficienta testarea anticorpilor IgM, deoarece prezenta acestei clase poate fi datorata persistentei de IgM sau reinfectiei asimptomatice cu Toxoplasma, fara ris la fetus.

Din acest motiv este utila testarea aviditatii anticorpilor IgG, atata timp cat s-a demonstrat ca aviditatea este scazuta in faza acuta a infectiei si crescute peste o perioada de timp. Prezenta anticorpilor cu aviditate scazuta este prin urmare un indicator al infectiei primare. Aviditatea anticorpilor IgG in ser poate fi testata cu aceasta trusa pe instrumentul CHORUS.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Toxoplasma IgG Avidity este gata de utilizare pentru detectia de aviditate a anticorpilor IgG impotriva Toxoplasma gondii, pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay).

Un acest de disociere cauzeaza separarea anti-Toxoplasma IgG umane care este lipita de antigenul legat la faza solida. Aceasta separare este proportionala cu aviditatea. Raportul procentual este calculate in comparative cu un godeu netratat, si valoare aviditatii IgG-ului obtinut.

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

Rezultatele sunt exprimate inprocentaj de aviditate.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

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

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

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

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

Masuri de Precautie Analitice

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

1. **Indeprtati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive

carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.

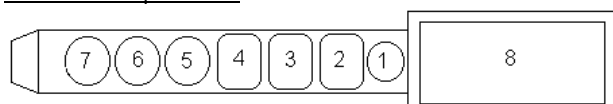
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
9. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
10. Folosirea probelor accentuat hemolizate, lipemice, icterice, din seruri necoagulate complet sau din probe care prezinta contaminare microbiana, pot constitui toate surse de eroare.
11. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
12. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari.

DD DISPOZITIVE 2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive.

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: Tampon aviditate

Continut: Uree in solutie tampon salin cu continut de fenol (0.05%) si Bronidox (0.02%).

Pozitia 6-5: Godeu microplaci captusit cu Toxoplasma gondii

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

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

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: Solutie proteica continand fenol 0.05%, Bronidox 0.02% si indicator pentru a demonstra prezenta serului.

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi monoclonali anti-umani IgG tapetati cu peroxidaza din hrean in solutie tampon fosfat continand 0.05% fenol si 0.02% Bronidox.

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica

gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CONTROL HIGH Aviditate Ridicata Control Ser **1 x 0.3 ml**
Continut: Ser uman diluat continand anticorpi aviditate ridicata si conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

SAMPLE DILUENT Proba Diluant **1 x 1.5 ml**
Continut: IgG ser negativ va fi folosit ca diluant proba pentru aceia care au dat un rezultat peste medie.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE:

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

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

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

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

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

DISPOZITIVELE	8 saptamani la 2/8°C
SER CONTROL	8 saptamani la 2/8°C
AVIDITATE RIDICATA	8 saptamani la 2/8°C
PROBA DILUANT	8 saptamani la 2/8°C

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

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

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

Serul proaspat poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C si poate fi decongelat de maxim 3 ori.

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

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

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageți numărul necesar de dispozitive și, după ce ați eliminat aerul din interiorul pungii continuând restul dispozitivelor, sigilați-o.
2. Verificați starea dispozitivului în conformitate cu indicațiile menționate în capitolul 4, Măsurile de Precauție Analitice.
3. Distribuți 50 µl din serul de testare nediluat în godeul numărul 1 al fiecărui dispozitiv.
4. Poziționați dispozitivele în instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuați testul conform specificațiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obținute. Acesta trebuie folosit conform indicațiilor din manualul de operare al instrumentului. În cazul în care instrumentul semnalează faptul că serul de control are o valoare care se situează în afara intervalului acceptabil, testul trebuie repetat. Dacă rezultatul serului de control continuă să se situeze în afara intervalului acceptabil, apălați Suportul Științific.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprimă rezultatele în procentaj de aviditate.

Un procentaj >40% indică faptul că IgG are o aviditate crescută.

Valorile mai scăzute de 30% indică aviditate scăzută.

Valorile intermediare indică aviditate medie.

Dacă apare semnul NC pe instrument IU/ml din proba este mai scăzută de 15 IU/ml.

Dacă apare semnul DIL pe instrument IU/ml sunt peste 100 IU/ml; în acest caz diluați proba (e.g. 1:5) în Sample Diluent și repetați testul.

Repetati testul în cazul unui rezultat de aviditate mediu.

Este recomandată repetarea testului după 2-3 săptămâni, pentru a evalua o posibilă variație a procentajului de aviditate.

11. LIMITARI

Testul este aplicabil probelor cu conținut de cel puțin 20 IU/ml din IgG anti-Toxoplasma și mai puțin de 100 IU/ml.

Un rezultat care arată o aviditate crescută nu exclude posibilitatea ca a existat o infecție recentă. Pe de altă parte, datorită specificității crescute a testului, o aviditate scăzută indică infecția în timpul celor 3 luni anterioare.

Testul, într-adevăr, nu poate fi folosit ca unică metodă pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate în raport cu informația disponibilă din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 6 probe pozitive la: Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Herpes simplex, Mumps și Rubella.

Nu s-a identificat nicio reacție încrucișată semnificativă.

13. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 55 probe cu kitul Diesse și cu un alt kit disponibil pe piață.

Datele sunt rezumate în tabelul următor:

		Referință		
		Scăzut	Crescut	Total
Diesse	Scăzut	11	0	11
	Crescut	2	42	44
	Total	13	42	55

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului): 86.4% CI_{95%}: 57.6-95.5

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului): 100% CI_{95%}: 91.6-99.9.

Acordul dintre cele două metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.88.

14. PRECIZIA

Precizia în cadrul ciclului de rulare

	Nr. replici	Media (Aviditate%)	St. Dev.	CV%
Lot nr. 021	9	57	2	4
Lot nr. 022	9	62	2	3
Lot nr. 024	9	81	6	7

Precizia între ciclurile de rulare

Proba	Aviditate %			Media	St. Dev.	CV%
	Lot 021	Lot 022	Lot 024			
TAV 1	68	79	80	76	7	9
TAV 3	11	14	11	12	2	17

15. BIBLIOGRAFIE

1. K. Hedman, M. Lappalainen, I. Seppala, O. Makela. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Inf. Dis. 159: 736 (1989).
2. A. M. Van Loon, J. Van der Veen. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635 (1980).
3. M. Lappalainen, P. Koskela. Marjaleena et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Inf. Dis. 167: 691 (1993).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei laghi 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy



0123

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