

CHORUS



Parvovirus B19 IgM

REF 81152

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Via delle Rose, 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





CHORUS Parvovirus B19 IgM

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-Parvovirus B19

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-Parvovirus B19 nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Il Parvovirus B19 è il più piccolo virus conosciuto; fu scoperto nel sangue di donatori nel 1974 e ad oggi sono stati identificati tre diversi genotipi. È caratterizzato da un'alta stabilità nei confronti dei fattori ambientali e dei detergenti.

Le infezioni da Parvovirus B19 sono presenti in tutti il mondo, specialmente in primavera; attacchi epidemici possono verificarsi negli asili e nelle scuole. Il virus è trasmesso per aerosol, tramite il sangue o suoi derivati o attraverso la placenta; il periodo di incubazione è tra i 4 ed i 14 giorni e può essere rivelato nel siero di pazienti infetti tra il terzo ed il sedicesimo giorno dopo l'infezione.

Negli adulti sani la ricerca di anticorpi dà risultati positivi in circa il 70% dei casi. Le infezioni acute sono più frequenti tra i 6 ed i 15 anni. Nei bambini il virus causa la quinta malattia.

Quando compare l'esantema, il paziente non è più infettivo. In alcuni soggetti si possono verificare manifestazioni artritiche con artralgie. Il virus si replica negli eritroblasti causando anemia temporanea; l'infezione può portare complicazioni in pazienti immunocompromessi. Un'infezione in gravidanza può provocare inibizione di eritropoiesi nel feto con conseguenti anemia e idrope fetale fino anche alla morte.

La determinazione di anticorpi anti-Parvovirus B19 mediante metodica ELISA è il metodo standard per la diagnosi delle infezioni da Parvovirus: le IgM vengono rilevate fino a 3-5 mesi dall'infezione mentre le IgG appaiono dalla terza settimana dall'infezione e permangono per tutta la vita.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Parvovirus B19 IgM è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-VP2 di Parvovirus B19, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con siero umano diluito. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-IgM umane coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è

proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

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

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

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati 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 Schede di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.
Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.
Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

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

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

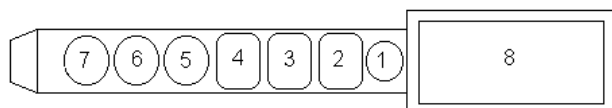
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre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

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con antigene VP2 di Parvovirus B19

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

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

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica contenente fenolo 0.05%, Bronidox 0.02%, anticorpi anti-IgG umane ed un indicatore per rivelare la presenza di siero.

Posizione 2: CONIUGATO

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

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.175 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-VP2 di Parvovirus B19 e conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgM anti-VP2 di Parvovirus B19 e conservante. Liquido, pronto all'uso

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

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

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

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

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

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

| | |
|--------------------|---------------------|
| DISPOSITIVI | 8 settimane a 2/8°C |
| CALIBRATORE | 8 settimane a 2/8°C |
| CONTROLLO POSITIVO | 8 settimane a 2/8°C |

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero 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 erronei.

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

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire

gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.

- Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
- Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero non diluito da analizzare. Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
- Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

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

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

POSITIVO: quando il risultato è > 1.2

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.8

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.8 e 1.2

In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 – 220 IU/ml)
Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Trigliceridi (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Emoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

13. CROSS-REATTIVI

24 campioni, positivi a HSV, Varicella zoster, Epstein-Barr virus, Mycoplasma pneumoniae, H. pylori e Influenza sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 496 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

| | | Riferimento | | Totale |
|--------|--------|-------------|-----|--------|
| | | + | - | |
| Diesse | + | 94 | 4 | 98 |
| | - | 4 | 394 | 398 |
| | Totale | 98 | 398 | 496 |

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):
95.9% CI_{95%}: 89.9-98.4

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):
99.0% CI_{95%}: 97.4-99.6

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.94.

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

| Campione | All'interno della seduta | | Tra sedute | |
|----------|--------------------------|-------|---------------|-------|
| | Media (Index) | CV% | Media (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | 45.0* | 0.1 | 50.0* |
| 2 | 0.2 | 35.0* | 0.2 | 20.0* |
| 3 | 0.3 | 10.0 | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 10.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | - | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.4 | 7.9 | 1.5 | 3.3 |
| 7 | 2.4 | 3.8 | 2.7 | 7.8 |
| 8 | 3.9 | 3.1 | 4.1 | 7.3 |
| 9 | 5.9 | 11.4 | 5.8 | 7.8 |

| Campione | Tra lotti | | Tra strumenti | |
|----------|---------------|------|---------------|------|
| | Media (Index) | CV% | Media (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 2 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 3 | 0.3 | - | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 12.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | 7.5 | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.5 | - | 1.5 | - |
| 7 | 2.7 | - | 2.7 | 4.4 |
| 8 | 4.0 | 2.5 | 4.0 | 2.5 |
| 9 | 5.6 | 1.1 | 5.7 | 6.7 |

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

16. BIBLIOGRAFIA

- Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. Lancet 1 (1975) 72-73
- Ergaz Z, Ornoy A. Parvovirus B19 in pregnancy. Reprod Toxicol 21 (2006) 421-435
- Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. Clin Microbiol Rev 15 (2002) 485-505
- Zaki Mel S, Hassan SA, Seleim T, Lateef RA. Parvovirus B19 infection in children with a variety of hematological disorders. Hematology 11 (2006) 261-266



DIESSSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





CHORUS Parvovirus B19 IgM

**For the qualitative determination of anti-
Parvovirus B19 IgM antibodies**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of IgM class antibodies against Parvovirus B19 in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Parvovirus B19 is the smallest known virus; it was discovered in the blood of donors in 1974 and up to now three different genotypes were identified. It has a high stability against environmental factors and detergents.

Parvovirus B19 infections are present in all the world, especially during spring; epidemic attacks can occur in kindergartens and schools. The virus is transmitted by aerosol, through the blood or its derivatives or through the placenta; the incubation period is between 4 and 14 days and it can be detected in infected patients' serum between the third and the sixteenth day after infection.

In healthy adults the detection of antibodies gives positive results in about 70% of cases. Acute infections are more frequent between 6 and 15 years old. In children, the virus causes the fifth disease.

When the rash appears, the patient is no longer infectious. In some cases arthritic manifestations with arthralgia can appear. The virus replicates in the erythroblasts causing temporary anemia; the infection can lead to complications in immunocompromised patients. Infection during pregnancy can cause inhibition of erythropoiesis in the fetus resulting in anemia and fetal hydrops even until death.

The determination of anti-Parvovirus B19 antibodies by ELISA technique is the standard method for the diagnosis of Parvovirus infections: IgM are detected up to 3-5 months from infection while IgG appear by the third week of infection and persist for the life.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Parvovirus B19 IgM device is ready to use for the detection of IgM antibodies against Parvovirus B19 VP2, in the Chorus/ Chorus TRIO instruments.

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

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

proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

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

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

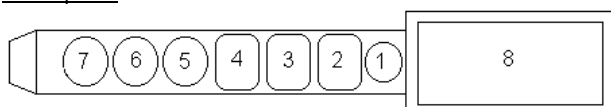
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes 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 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with Parvovirus B19 VP2 antigen

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

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

Position 3: SAMPLE DILUENT

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

Position 2: CONJUGATE

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

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.175 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies anti-Parvovirus B19 VP2 and preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Diluted human serum containing IgM antibodies anti-Parvovirus B19 VP2 and preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

The fresh 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; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

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

must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is > 1.2

NEGATIVE: when the result is < 0.8

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 0.8 and 1.2

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

11. LIMITATIONS

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

The test, indeed, 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. ANALYTICAL SPECIFICITY

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

Rheumatoid Factor (44 – 220 IU/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglycerides (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobin (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

13. CROSS-REACTIONS

24 samples, positive to HSV, Varicella zoster, Epstein-Barr virus, Mycoplasma pneumoniae, H. pylori and Influenza were tested.

No significant cross-reactions were found.

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 496 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

| | | Reference | | |
|--------|-------|-----------|-----|-------|
| | | + | - | Total |
| Diesse | + | 94 | 4 | 98 |
| | - | 4 | 394 | 398 |
| | Total | 98 | 398 | 496 |

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

95.9% CI_{95%}: 89.9-98.4

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

99.0% CI_{95%}: 97.4-99.6

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.94.

15. PRECISION AND REPEATABILITY

| Sample | Within-run Precision | | Between-run precision | |
|--------|----------------------|-------|-----------------------|-------|
| | Mean (Index) | CV% | Mean (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | 45.0* | 0.1 | 50.0* |
| 2 | 0.2 | 35.0* | 0.2 | 20.0* |
| 3 | 0.3 | 10.0 | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 10.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | - | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.4 | 7.9 | 1.5 | 3.3 |
| 7 | 2.4 | 3.8 | 2.7 | 7.8 |
| 8 | 3.9 | 3.1 | 4.1 | 7.3 |
| 9 | 5.9 | 11.4 | 5.8 | 7.8 |

| Sample | Precision between batches | | Precision between instruments | |
|--------|---------------------------|------|-------------------------------|------|
| | Mean (Index) | CV% | Mean (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 2 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 3 | 0.3 | - | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 12.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | 7.5 | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.5 | - | 1.5 | - |
| 7 | 2.7 | - | 2.7 | 4.4 |
| 8 | 4.0 | 2.5 | 4.0 | 2.5 |
| 9 | 5.6 | 1.1 | 5.7 | 6.7 |

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

16. REFERENCES

- Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. Lancet 1 (1975) 72-73
- Ergaz Z, Ornoy A. Parvovirus B19 in pregnancy. Reprod Toxicol 21 (2006) 421-435
- Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. Clin Microbiol Rev 15 (2002) 485-505
- Zaki Mel S, Hassan SA, Seleim T, Lateef RA. Parvovirus B19 infection in children with a variety of hematological disorders. Hematology 11 (2006) 261-266



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





CHORUS Parvovirus B19 IgM

Para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-Parvovirus B19

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-Parvovirus B19 en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

El Parvovirus B19 es el virus más pequeño que se conoce; se descubrió en la sangre de donantes en 1974 y hasta hoy se han identificado tres genotipos distintos. Se caracteriza por una alta estabilidad frente a factores ambientales y detergentes.

Las infecciones por Parvovirus B19 están presentes en todo el mundo, especialmente en primavera; se pueden producir ataques epidémicos en colegios y guarderías. El virus se transmite por aerosol, a través de la sangre o sus derivados, o a través de la placenta; el período de incubación es de entre 4 y 14 días, y puede detectarse en el suero de pacientes infectados entre el tercer y el decimosexto día tras la infección.

En adultos sanos, la búsqueda de anticuerpos da resultados positivos en aproximadamente el 70% de los casos. Las infecciones graves son más frecuentes entre los 6 y los 15 años. En niños, el virus causa la quinta enfermedad.

Cuando aparece el exantema, el paciente deja de ser contagioso. En algunos sujetos se pueden producir manifestaciones de artritis con artralgia. El virus se replica en los eritroblastos causando anemia temporal; la infección puede conllevar complicaciones en pacientes inmunocomprometidos. La infección durante el embarazo puede provocar inhibición de la eritropoyesis en el feto, causando anemia y hidropesía fetal, incluso hasta la muerte.

La determinación de anticuerpos anti-Parvovirus B19 mediante ELISA es el método estándar para el diagnóstico de las infecciones por Parvovirus: las IgM se detectan hasta los 3-5 meses de la infección, mientras que las IgG aparecen desde la tercera semana de la infección y permanecen durante toda la vida.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Parvovirus B19 IgM está listo para su uso para la detección de anticuerpos IgM anti-VP2 de Parvovirus B19, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

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

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

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

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

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

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados 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.

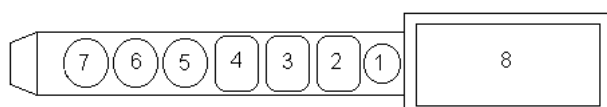
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten 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 dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con antígeno VP2 de Parvovirus B19

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

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

Posición 2: CONJUGADO

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

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM anti- VP2 de Parvovirus B19 y conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenido: Suero humano diluido que contiene anticuerpos IgM anti- VP2 de Parvovirus B19 y conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

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

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero 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. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO cuando el resultado es > 1.2

NEGATIVO cuando el resultado es < 0.8

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está entre 0.8 y 1.2

En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.

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

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

Factor reumatoide (44 - 220 IU/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

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

13. REACCIONES CRUZADAS

24 muestras, positivas en HSV, Varicella zoster, Epstein-Barr virus, Mycoplasma pneumoniae, H. pylori y Influenza fueron testadas.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 496 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

| | | Referencia | | |
|--------|-------|------------|-----|-------|
| | | + | - | Total |
| Diesse | + | 94 | 4 | 98 |
| | - | 4 | 394 | 398 |
| | Total | 98 | 398 | 496 |

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

95.9% CI_{95%}: 89.9-98.4

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

99.0% CI_{95%}: 97.4-99.6

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.94.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

| Muestra | INTRA-ENSAYO | | ENTRE ENSAYOS | |
|---------|---------------|-------|---------------|-------|
| | Media (Index) | CV% | Media (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | 45.0* | 0.1 | 50.0* |
| 2 | 0.2 | 35.0* | 0.2 | 20.0* |
| 3 | 0.3 | 10.0 | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 10.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | - | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.4 | 7.9 | 1.5 | 3.3 |
| 7 | 2.4 | 3.8 | 2.7 | 7.8 |
| 8 | 3.9 | 3.1 | 4.1 | 7.3 |
| 9 | 5.9 | 11.4 | 5.8 | 7.8 |

| Muestra | ENTRE LOTES | | ENTRE EQUIPOS | |
|---------|---------------|------|---------------|------|
| | Media (Index) | CV% | Media (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 2 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 3 | 0.3 | - | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 12.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | 7.5 | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.5 | - | 1.5 | - |
| 7 | 2.7 | - | 2.7 | 4.4 |
| 8 | 4.0 | 2.5 | 4.0 | 2.5 |
| 9 | 5.6 | 1.1 | 5.7 | 6.7 |

*Artefacto debido al conocido efecto de Variación del Coeficiente que se vuelve extremadamente sensible a los

cambios (aunque muy pequeños) cuando el valor medio es cercano a cero.

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1 (1975) 72-73
2. Ergaz Z, Ornoy A. Parvovirus B19 in pregnancy. *Reprod Toxicol* 21 (2006) 421-435
3. Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev* 15 (2002) 485-505
4. Zaki Mel S, Hassan SA, Seleim T, Lateef RA. Parvovirus B19 infection in children with a variety of hematological disorders. *Hematology* 11 (2006) 261-266



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





CHORUS Parvovirus B19 IgM

Para a determinação qualitativa dos anticorpos IgM anti-Parvovirus B19

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa dos anticorpos IgM anti-Parvovirus B19 no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O Parvovirus B19 é o vírus mais pequeno que se conhece. Foi descoberto em 1974 no sangue de doadores e, até à data, foram identificados três genótipos diferentes. É caracterizado pela sua alta estabilidade perante fatores ambientais e detergentes.

As infeções por Parvovirus B19 estão presentes em todo o mundo, sobretudo na primavera. Podem ocorrer ataques epidemiológicos nos infantários e nas escolas. O vírus é transmitido por aerossol, através do sangue ou dos seus derivados e através da placenta. O período de incubação é de 4 a 14 dias e pode ser detetado no soro de doentes infetados entre o terceiro e décimo sexto dia, após a infeção.

Nos adultos são, a procura de anticorpos dá resultados positivos em cerca de 70% dos casos. As infeções agudas são mais frequentes dos 6 aos 15 anos. Nas crianças o vírus provoca o eritema infeccioso (quinta doença).

Quando surge o exantema, o doente já não é infeccioso. Em determinados indivíduos podem verificar-se manifestações artríticas com artralguas. O vírus multiplica-se nos eritroblastos, causando anemia temporária; a infeção pode causar complicações em doentes imunocomprometidos. Uma infeção durante a gravidez pode provocar a inibição da eritropoiese no feto, com consequentes anemia e hidropisia fetal e até mesmo morte.

A determinação de anticorpos anti-Parvovirus B19 pelo método ELISA é o método normalizado para diagnóstico das infeções por Parvovirus: os IgM são detetados até 3-5 meses de distância da infeção, enquanto os IgG aparecem a partir da terceira semana após a infeção e permanecem no sangue durante toda a vida.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Parvovirus B19 IgM está pronto para ser utilizado na determinação dos anticorpos IgM anti-VP2 de Parvovirus B19, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). O antigénio é ligado à fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antigénio por incubação com soro humano diluído. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-

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

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

O resultado é expresso em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

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 proteção para os olhos quando manusear as amostras.
 3. Lavar muito bem as 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.

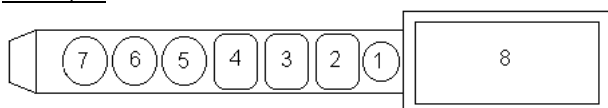
1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam 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, lipémicas, ictéricas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
12. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com antígeno VP2 de Parvovirus B19

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

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

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

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

Posição 2: CONJUGADO

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

Posição 1: 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.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti-VP2 de Parvovirus B19 e conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Conteúdo: Soro humano diluído que contém anticorpos IgM anti-VP2 de Parvovirus B19 e conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- 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 |
| CALIBRADOR | 8 semanas entre 2 e 8°C |
| CONTROLO POSITIVO | 8 semanas entre 2 e 8°C |

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro, 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; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

O teste do soro analisado pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 1.2

NEGATIVO quando o resultado for < 0.8

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver entre 0.8 e 1.2

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

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

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

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

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras (2 Negativos, 1 Cut-Off e 2 Positivos) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44 – 220 IU/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml – 30 mg/ml)

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

13. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 24 amostras, positivas em HSV, Varicella zoster, Epstein-Barr virus, Mycoplasma pneumoniae, H. pylori e Influenza.

Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 496 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

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

| | | Referência | | |
|--------|-------|------------|-----|-------|
| | | + | - | Total |
| Diesse | + | 94 | 4 | 98 |
| | - | 4 | 394 | 398 |
| | Total | 98 | 398 | 496 |

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

95.9% CI_{95%}: 89.9-98.4

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

99.0% CI_{95%}: 97.4-99.6

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.94.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

| Amostra | No Ensaio | | Entre Ensaios | |
|---------|---------------|-------|---------------|-------|
| | Média (Index) | CV% | Média (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | 45.0* | 0.1 | 50.0* |
| 2 | 0.2 | 35.0* | 0.2 | 20.0* |
| 3 | 0.3 | 10.0 | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 10.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | - | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.4 | 7.9 | 1.5 | 3.3 |
| 7 | 2.4 | 3.8 | 2.7 | 7.8 |
| 8 | 3.9 | 3.1 | 4.1 | 7.3 |
| 9 | 5.9 | 11.4 | 5.8 | 7.8 |

| Amostra | Entre Lotes | | Entre Equipamentos | |
|---------|---------------|------|--------------------|------|
| | Média (Index) | CV% | Média (Index) | CV% |
| 1 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 2 | 0.2 | - | 0.2 | - |
| 3 | 0.3 | - | 0.3 | - |
| 4 | 0.5 | 12.0 | 0.5 | 12.0 |
| 5 | 0.8 | 7.5 | 0.8 | 7.5 |
| 6 | 1.5 | - | 1.5 | - |
| 7 | 2.7 | - | 2.7 | 4.4 |
| 8 | 4.0 | 2.5 | 4.0 | 2.5 |
| 9 | 5.6 | 1.1 | 5.7 | 6.7 |

*Artefacto devido ao conhecido efeito de Variação do Coeficiente que se torna extremamente sensível a variações

(mesmo muito pequenas) quando o valor da média está próximo de zero.







16. BIBLIOGRAFIA

1. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1 (1975) 72-73
2. Ergaz Z, Ornoy A. Parvovirus B19 in pregnancy. *Reprod Toxicol* 21 (2006) 421-435
3. Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev* 15 (2002) 485-505
4. Zaki Mel S, Hassan SA, Seleim T, Lateef RA. Parvovirus B19 infection in children with a variety of hematological disorders. *Hematology* 11 (2006) 261-266



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy



| | | |
|---|--|--|
|  | 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 Fabricante | 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 |